

ANTONIO LEMMI M. MURTA

ESPECTROMETRIA DE MASSA DE CLORO-DEOXI-AÇÚCARES

TESE DE MESTRADO APRESENTADA AO DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA
DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CURITIBA

1976

BANCA EXAMINADORA:

Trabalho orientado pelo Professor Dr. José Hazencleve Duarte

À minha esposa Regina Célia, pelo estímulo e compreensão.

ÍNDICE

1. Resumo	I
2. Abstract	II
3. Introdução	1
4. Material e métodos	3
4.1. Métodos gerais	3
4.2. Espectrometria de massa/cromatografia com gás.....	3
4.3. Síntese dos açúcares halogenados	4
5. Resultados e discussão	6
5.1. Síntese	6
5.2. Espectrometria de massa de cloro-deoxi-açúcares....	10
5.2.1. Mecanismo de fragmentação do metil 2,3,4- tri-O-acetil-6-cloro-6-deoxi- α -D-glucopiranosídeo.	10
5.2.1.1. Série A	10
5.2.1.2. Tabela II	11
5.2.1.3. Série B	14
5.2.1.4. Série C	15
5.2.1.5. Série D	16
5.2.1.6. Série E	17
5.2.1.7. Série F	18
5.2.1.8. Série H	19
5.2.1.9. Série I	20
5.2.1.10. Série J	20
5.2.1.11. Série K	21
5.2.1.12. Série N	21
5.2.2. Mecanismo de fragmentação do metil 2,3-di-O- -acetil-4,6-dicloro-4,6-dideoxi- α -D-galactopirano- -sídeo	22
5.2.2.1. Série A	22
5.2.2.2. Tabela II	23
5.2.2.3. Série B	24
5.2.2.4. Série C	25
5.2.2.5. Série E	26
5.2.2.6. Série F	26

5.2.2.7. Série H	27
5.2.2.8. Série I	27
5.2.2.9. Série J	28
5.2.3. Mecanismo de fragmentação do metil 2,3-di-O-me til-4,6-dicloro-4,6-dideoxi- α -D-galactopiranosídeo..	28
5.2.3.1. Série A	28
5.2.3.2. Tabela III	29
5.2.3.3. Série B	30
5.2.3.4. Série C	31
5.2.3.5. Série E	32
5.2.3.6. Série F	33
5.2.3.7. Série H	33
5.2.3.8. Série J	34
5.2.3.9. Série K	34
5.2.3.10. Série L	34
5.2.3.11. Série R	35
5.2.4. Mecanismo de fragmentação do metil 2-O-acetil- -3,4,6-tricloro-3,4,6-trideoxi- α -D-gulopiranosídeo.	36
5.2.4.1. Série A	36
5.2.4.2. Tabela IV	37
5.2.4.3. Série B	38
5.2.4.4. Série C	38
5.2.4.5. Série E	39
5.2.4.6. Série G	39
5.2.5. Mecanismo de fragmentação do metil 2,3-di-O- -acetil-4-cloro-4-deoxi- β -L-arabinopiranosídeo	40
5.2.5.1. Série A	40
5.2.5.2. Série B	40
5.2.5.3. Tabela V	41
5.2.5.4. Série C	42
5.2.5.5. Série D	42
5.2.5.6. Série F	43
5.2.5.7. Série G	43
5.2.5.8. Série H	43
5.2.5.9. Série I	44
5.2.5.10. Série J	45
5.2.5.11. Série K	45

5.2.5.12.Série 0	45
6. Conclusão	46
7. Agradecimentos	47
8. Referências bibliográficas	48
9. Apêndice I	51
10. Apêndice II	54

RESUMO

Foi estudado o mecanismo de fragmentação por impacto eletrônico de vários metil glicopiranosídeos halogenados nos carbonos C-6; C-4 e C-6; C-3, C-4 e C-6. O efeito indutivo do átomo de cloro, reduz a densidade eletrônica na ligação química entre os átomos de carbono adjacentes ao cloro, facilitando a cisão destas ligações. A intensidade deste efeito é proporcional ao número de átomos de cloro presentes nos carbonos vizinhos e esta ligação. A eliminação de cloro sob a forma de HCl ou de $\dot{\text{Cl}}$ (devido ao efeito indutivo do cloro) dá origem a fragmentos muito abundantes, principalmente por causa da estabilidade das moléculas ou radicais neutros eliminados .

ABSTRACT

The mechanism of fragmentation under electron impact of some methyl glycopyranosides halogenated at carbons C-6; C-4 and C-6; C-3, C-4 and C-6, was studied. The inductive effect of chlorine reduce the electron density in the chemical bond between two carbons adjacents to chlorine, causing the rupture of these bonds. The magnitude of this effect is proportional to the number of chlorine presente in the carbons neighbours to these bonds. The loss of chlorine, as HCl or $\dot{\text{Cl}}$ (because of the inductive effect of chlorine) give rise to very abundant fragments, mainly because of stability of the neutral molecules or radicals lost.

INTRODUÇÃO

O interesse recente pelos açúcares halogenados é devido não só a sua comprovada atividade em sistemas biológicos , como também à sua participação em diversos processos de síntese. Substâncias de interesse biológico , como deoxi e amino-deoxi-açúcares, podem ser obtidas a partir destes derivados. A halogenação da porção glicosídica de alguns antibióticos que ocorrem na natureza dá origem a substâncias com atividade quimioterápica maior que o composto original (1,2) .

A síntese de açúcares halogenados tem sido investigada por vários autores (1 - 14) , mas a análise estrutural destes compostos por métodos físicos , como a espectrometria de massa (empregando a técnica do impacto eletrônico como forma de ionização) , não foi estudada em detalhes. Embora esta técnica de ionização não forneça o íon molecular , o estudo dos fragmentos obtidos permite esclarecer detalhes estruturais do composto que lhes deu origem , tais como o número de substituintes halogenados e sua posição no anel semi-acetálico dos açúcares. Estes detalhes estruturais são muito importantes quando se pretende correlacionar a atividade biológica com os grupos substituintes da molécula.

O estudo de carboidratos por espectrometria de massa teve início em 1958 quando Finan , Reed e Snedden (15) estudaram os espectros de massa da D-glucose , D-galactose , metil α - e β - D - glucopiranosídeos e alguns dissacarídeos.

Posteriormente foram realizados vários trabalhos sobre o mecanismo de fragmentação de compostos orgânicos e seus derivados , por

impacto eletrônico (16-20) os quais serviram de base para os estudos subsequentes do mecanismo de fragmentação de carboidratos (21-24).

Bieman (23,24) propôs o mecanismo de fragmentação de pentoses e hexoses, na forma de acetatos e derivados parcialmente metilados, e mostrou a possibilidade de relacionar as características do espectro ao número e posição dos grupos metoxila na molécula. Seus estudos também permitiram distinguir carboidratos com a conformação anelar do tipo piranosídica e furonosídica. Os mecanismos propostos foram confirmados pelo espectro das substâncias isotópicamente marcadas, principalmente trideuteroacetatos.

Kochetkov e Chizhov (22) realizaram um extenso trabalho sobre o mecanismo de fragmentação de derivados não halogenados de carboidratos e propuseram uma nomenclatura para os fragmentos obtidos por impacto eletrônico.

O presente trabalho tem por finalidade estudar o mecanismo de fragmentação de cloro-deoxi-açúcares, utilizando-se a técnica de impacto eletrônico como forma de ionização das moléculas, para a obtenção dos fragmentos.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Métodos gerais

As rotações óticas foram determinadas em polarímetro Perkin-Elmer modelo 141 a 25°C . Os pontos de fusão foram medidos em um sistema de placa aquecida tipo Kofler, sem correção de temperatura. Os espectros ¹H-NMR-100 MHz foram feitos em um espectrômetro Varian modelo XL-100, utilizando-se CDCl₃ como solvente, a 32°C, com largura de varredura de 1000 Hz e tempo de 500 segundos. Para a cromatografia preparativa em coluna (30 x 1cm) dos açúcares halogenados, foi utilizado Kieselgel 0,05-0,20 mm (E.Merck AG- Darmstadt - Alemanha). Os açúcares foram eluídos da coluna com uma mistura de solventes de éter de petróleo: éter etílico: acetato de etila, 5:2:1 (v/v), na velocidade de escoamento de 70 ml/hora, e os eluatos (200 ml) foram coletados em um coletor automático de frações Büchler (4ml/tubo). A detecção dos açúcares halogenados nos eluatos foi feita pelo método do fenol-ácido sulfúrico (25) e por cromatografia em camada delgada segundo Stahl, utilizando-se ciclo-hexano:acetato de etila, 2:1 (v/v). Os açúcares foram visualizados com ácido sulfúrico-metanol, 5:95 (v/v) , a 200°C.

2. Espectrometria de massa / cromatografia com gás

Os espectros de massa foram obtidos em um espectrômetro de massa de dupla focalização Jeol, modelo JMS-D100, acoplado a um cromatógrafo de gás Jeol, modelo JGS-20 K. As energias de ionização foram de 30 eV (300 μA) e 75 eV (50 μA). A câmara de ionização foi aquecida a 160°C e o separador a 250°C. Para a injeção direta na câmara de ionização (amostra sólida) a temperatura da amostra foi de 100°C.

A coluna cromatográfica foi de 100,0 x 0,3 cm com 3% de ECN33-M em Gas Chrom Q 80/100 mesh (Chromatographic Specialities-Broock - villo- Canadá) (21). A temperatura da coluna foi de 150°C e o fluxo de hélio de 20 ml/minuto.

3. Síntese dos açúcares halogenados

A síntese dos açúcares clorados foi realizada de acordo com o método descrito por Edwards e col. (5). Cloreto de mesila (cloreto de metano sulfonila, 31 ml) foi adicionado gota a gota durante 30 minutos a uma solução de metil α -D-glucopiranosídeo (4 g) em N,N-dimetilformamida anidra (65 ml) à temperatura de 0 - 2°C. Em seguida a mistura de reação foi mantida em agitação (agitador magnético com aquecimento) durante 10 dias à temperatura de 70°C (banho de glicerina). A reação foi interrompida adicionando-se ao sistema excesso de 1-propanol. O xarope marrom escuro obtido após evaporação (evaporador rotativo à vácuo), foi dissolvido em clorofórmio e tratado com carvão ativo. Após filtração e evaporação do clorofórmio, o resíduo de cor amarelo foi acetilado e tratado com carvão ativo. A análise por cromatografia em camada delgada do produto acetilado demonstrou a presença de dois componentes os quais foram separados em coluna de Kieselgel. O componente eluído da coluna em primeiro lugar, foi recristalizado 3 vezes em clorofórmio:éter de petróleo, 1:20 (v/v) e identificado como metil 2,3-di-O-acetil-4,6-dicloro-4,6-dideoxi- α -D-galactopiranosídeo (230 mg, 6%). Este composto apresentou ponto de fusão 103°C e $[\alpha]_D^{25} + 19^\circ$ (cl, piridina). (103,5-105°C e $[\alpha]_D^{25} + 19^\circ$ (c 1, piridina) (5)).

O componente eluído da coluna em segundo lugar foi recristalizado 3 vezes em clorofórmio:éter de petróleo, 1:20 (v/v) e identificado como metil 2,3,4-tri-O-acetil-6-cloro-6-deoxi- α -D-glucopirano

-sídeo (1,3g - 30%). O composto apresentou ponto de fusão de $96,5^{\circ}\text{C}$ e $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +163,3^{\circ}$ (c 2,07 piridina). Estes dados são bastante próximos daqueles obtidos por outros autores, para ponto de fusão $96,5 - 98,5^{\circ}\text{C}$ (5) e $98,0-99,0^{\circ}\text{C}$ (32), e para rotação ótica de $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +159^{\circ}$ (5) e $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +164^{\circ}$ (32).

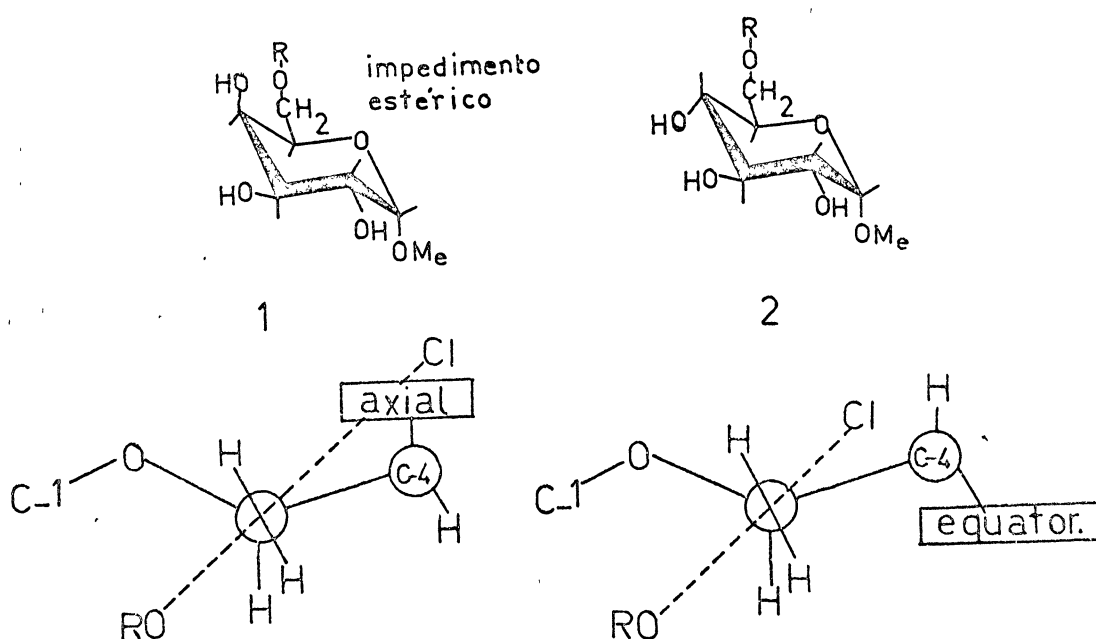
Os parâmetros de primeira ordem de $^1\text{H-NMR}$ (valores de τ) foram 5,05d (H-1), 4,99t (H-2), 4,53t (H-3), 5,18d (H-4), 5,98m (H-5), 6,40m (H-6a), 6,56m (H-6b).

Os demais açúcares halogenados utilizados neste trabalho, como metil 2,3-di-O-metil-4,6-dicloro-4,6-dideoxi- α -D-galactopiranosídeo, metil 2-O-acetil-3,4,6-tricloro-3,4,6-trideoxi- α -D-gulopiranosídeo e metil 2,3-di-O-acetil-4-cloro-4-deoxi- β -L-arabinosídeo, foram sintetizados e gentilmente cedidos pelo Professor J.K.N.Jones (Departamento de Química - Queen's University - Kingston - Canadá).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

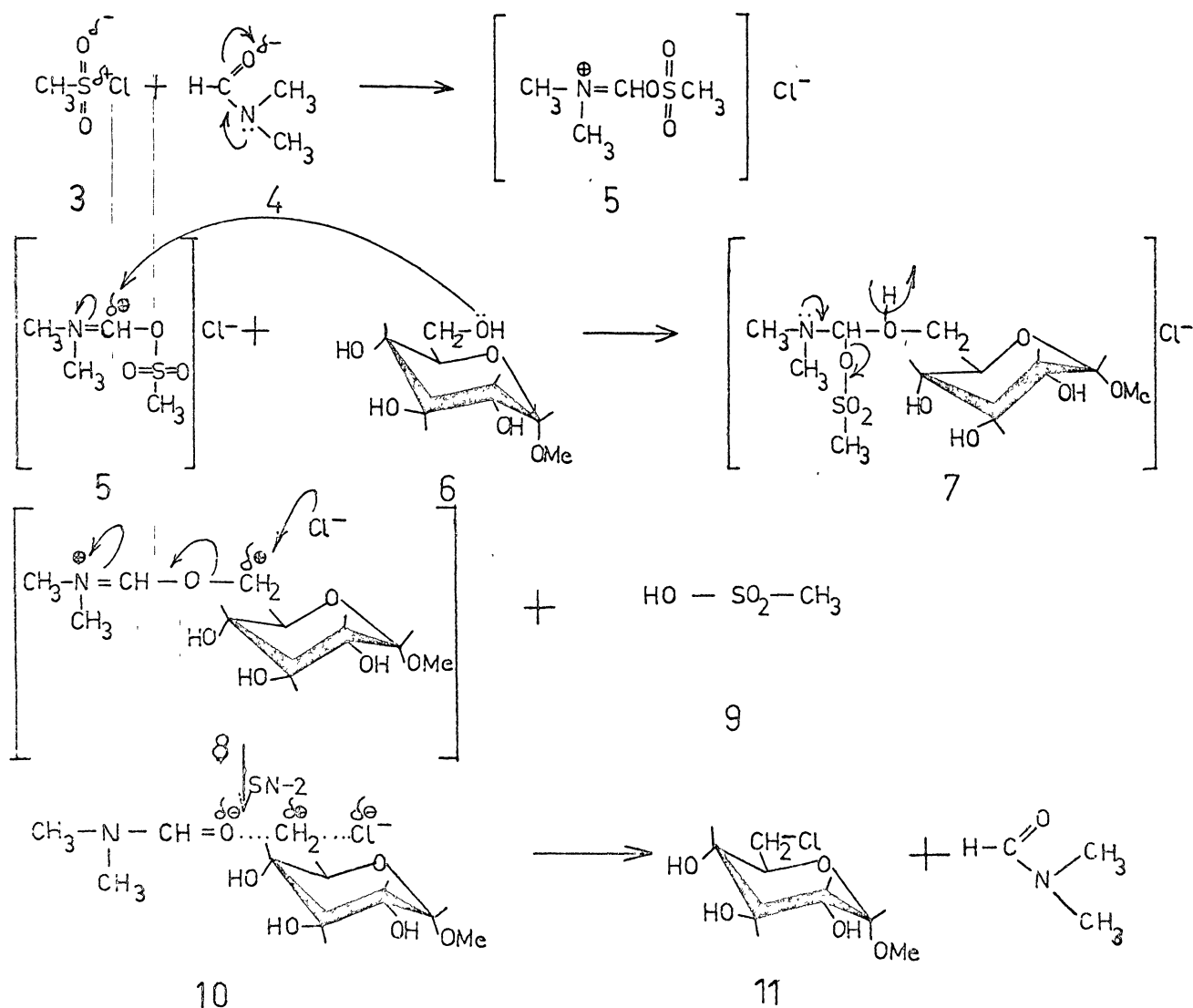
1. Síntese

Embora vários métodos de síntese de cloro-deoxi-açúcares tenham sido investigados (2-13), apenas alguns apresentavam seletividade na halogenação de grupos hidroxílicos em posição primária de derivados de hexapiranosídeos (2,5). Para a síntese do metil 2,3-di-O-acetil-4,6-dicloro-4,6-dideoxi- α -D-galactopiranosídeo e metil 2,3,4-tri-O-acetil-6-cloro-6-deoxi- α -D-glucopiranosídeo, foi escolhido um processo de reação de substituição nucleofílica (SN-2) no qual o grupo substituinte (sulfonado) foi deslocado pelo cloro. Essas reações ocorrem mais facilmente quando o grupo a ser deslocado estiver situado no carbono primário. Não haverá reação se o substituinte for adjacente a um grupo cis-axial. Deste modo o impedimento estérico no estado de transição para um grupo cis-axial em C-4 como na D-galactose-6-sulfonato 1 é maior do que no derivado correspondente da D-glucose (equatorial em C-4) 2

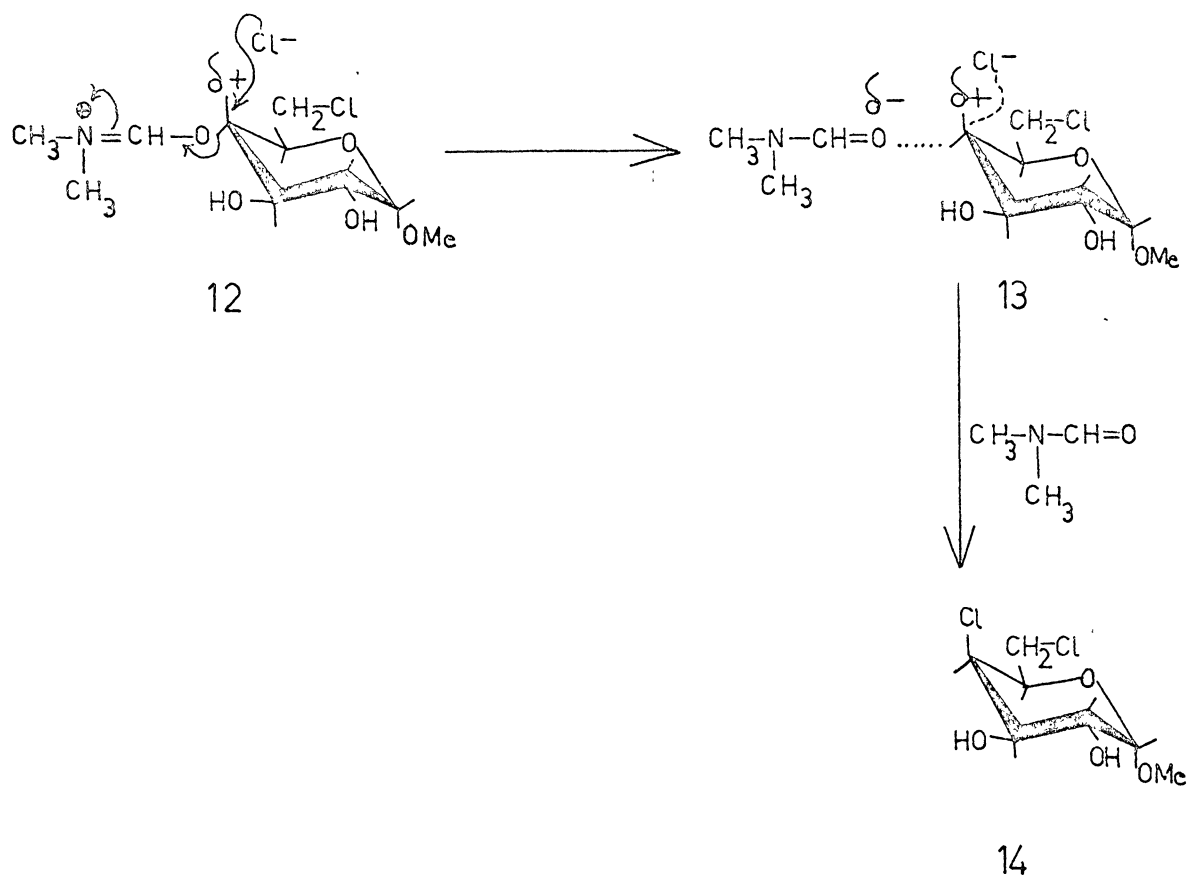


A fim de favorecer o deslocamento de grupos substituintes em posições secundárias do anel piranosídico, foi necessário o uso de solvente altamente polar e aprótico (N,N-dimetilformamida), que solvata as regiões mais deficientes de elétrons da molécula e por conseguinte torna-as menos reativas do que aquelas regiões com menor deficiência de elétrons 8 (2,6,27).

O mecanismo desta reação seria o ataque nucleofílico do oxigênio da hidroxila do carbono C-6 no carbono deficiente de eletrons do sal de iminium 5. Este sal é formado pela reação do cloreto de metano sulfonila 3 e N,N-dimetilformamida 4. O produto intermediário 8 sofre ataque do ion cloreto para formar inicialmente o derivado monoclorado 11 (2,4).



Posteriormente há um ataque do sal iminium na hidroxila do carbono C-4 do composto monoclorado 12 com a formação subsequente de um derivado diclorado 14 .



As reações devem ser realizadas em meio anidro, a fim de evitar a formação de ésteres fórmicos e consequentemente a diminuição do rendimento.(26).

A posterior substituição nucleofílica no carbono C-3 do composto¹⁴ não se processa devido ao impedimento estérico do cloro em posição axial no carbono C-4. A hidroxila do carbono C-2, devido ao impedimento estérico do oxigênio do anel, é menos reativa nesta molécula¹⁴, e dificilmente será substituída pelo cloro, no método de síntese em estudo. Szarec (2) estudando o mecanismo de substituição de grupos sulfoniloxi por halogênios, demonstrou que se o grupo sulfonato estiver situado no carbono C-2 de um derivado piranosídico, a substituição nucleofílica não ocorre normalmente, devido as interações polares bastantes desfavoráveis no estado de transição. Deste modo, partindo-se do metil α -D-glucopiranosídeo é possível se obter apenas dois derivados clorados.

2. Espectrometria de massa de cloro-deoxi-açúcares.

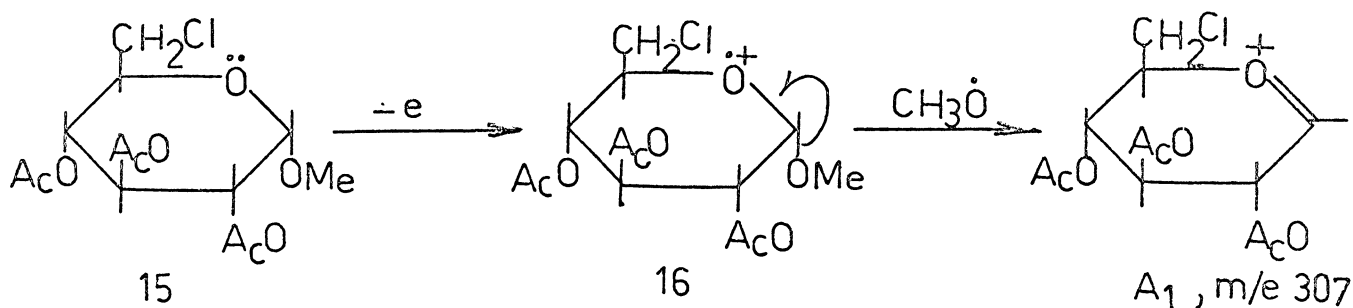
A ionização de carboidratos começa pela remoção de um elétron do átomo do oxigênio do anel, dando origem ao íon molecular M^+ (22, 29-31). Todo mecanismo de fragmentação de cloro-deoxi-açúcares discutido no presente trabalho é baseado num íon molecular deste tipo.

a. Mecanismo de fragmentação do metil 2,3,4-tri-O-acetil-6-cloro-6-deoxi- α -D-glucopiranosídeo.

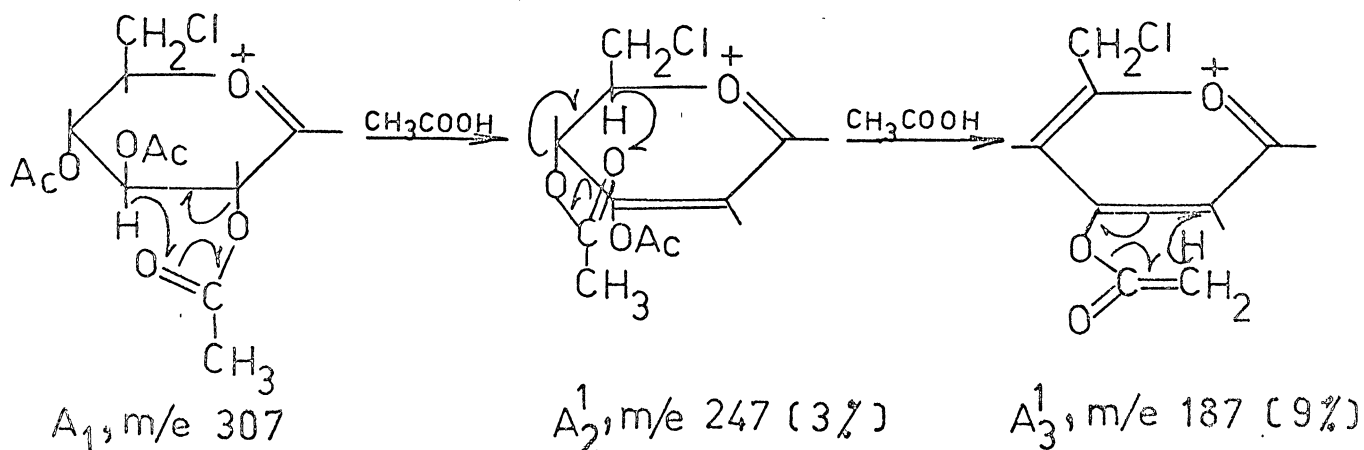
Na tabela I se encontram os valores de m/e dos fragmentos obtidos do espectro de massa deste açúcar.

Série A

O composto 15 dá origem inicialmente ao íon molecular M^+ 16 e a fragmentação posterior deste íon, com eliminação do grupo metoxila do carbono C-1, dá origem ao fragmento A_1 .



Em seguida há um rearranjo do tipo Mc Lafferty em A_1 , o qual explica a formação dos fragmentos A_2^1 e A_3^1 .



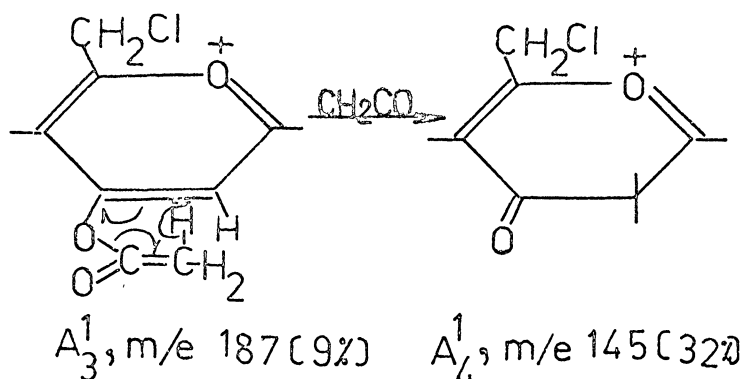
Resultados do espectro de massa do metil 2,3,4-tri-O-acetil-6-cloro-6-deoxi- α -D-glucopiranosídeo, baseados no isótopo ^{35}Cl .^a

m/e	Fragmento	A	Abundância%
338	M^+	1	0
307	$\text{A}_1, \text{M}^+ - \text{CH}_3\dot{\text{O}}$	1	4
289	$\text{E}_1, \text{M}^+ - \dot{\text{C}}\text{H}_2\text{Cl}$	0	1
278	$\text{C}_1, \text{M}^+ - \text{HCOOMe}$	1	2
247	$\text{A}_2, \text{A}_1 - \text{CH}_3\text{COOH}$	1	3
243	$\text{C}_2, \text{C}_1 - \text{Cl}\cdot$	0	43
229	$\text{E}_2, \text{E}_1 - \text{CH}_3\text{COOH}$	0	4
219	$\text{I}_1, \text{C}_1 - \text{CH}_3\text{CO}\dot{\text{O}}$	1	31
218	$\text{D}_1, \text{C}_1 - \text{CH}_3\text{COOH}$	1	31
205	$\text{N}_1, \text{A}_2 - \text{CH}_2\text{CO}$	1	8
201	$\text{B}_2, \text{M}^+ - (\text{CH}_2\text{ClCHO}, \text{CH}_3\text{CO}\dot{\text{O}})$	0	3
187	$\text{A}_3, \text{A}_2 - \text{CH}_3\text{COOH}$	1	9
187	$\text{E}_3, \text{E}_2 - \text{CH}_2\text{CO}$	0	9
183	$\text{C}_3, \text{C}_2 - \text{CH}_3\text{COOH}$	0	9
177	$\text{I}_2, \text{I}_1 - \text{CH}_2\text{CO}$	1	9
176	$\text{D}_2, \text{D}_1 - \text{CH}_2\text{CO}$	1	46
157	$\text{F}_1, \text{M}^+ - (\text{CH}_2\text{ClCHO}, \text{AcO}\dot{\text{C}}\text{HMe})$	0	100
145	$\text{A}_4, \text{A}_3 - \text{CH}_2\text{CO}$	1	32
144	$\text{H}_1, \text{M}^+ - (\text{HCOOMe}, \text{ClCH}_2\text{CH}=\text{CHOAc})$	0	33
141	$\text{C}_4, \text{C}_3 - \text{CH}_2\text{CO}$	0	32
134	$\text{K}_1, \text{M}^+ - (\text{HCOOCH}_3, \text{AcOCH}=\text{CHOAc})$	1	9
117	$\text{I}_3, \text{I}_2 - \text{CH}_3\text{COOH}$	1	41
115	$\text{F}_2, \text{F}_1 - \text{CH}_2\text{CO}$	0	55
103	$\text{J}_2, \text{J}_1 - \text{CH}_2\text{ClCHO}$	0	43
102	$\text{H}_2, \text{H}_1 - \text{CH}_2\text{CO}$	0	64
43	$-\text{CH}_3\text{CO}^+$	0	>100

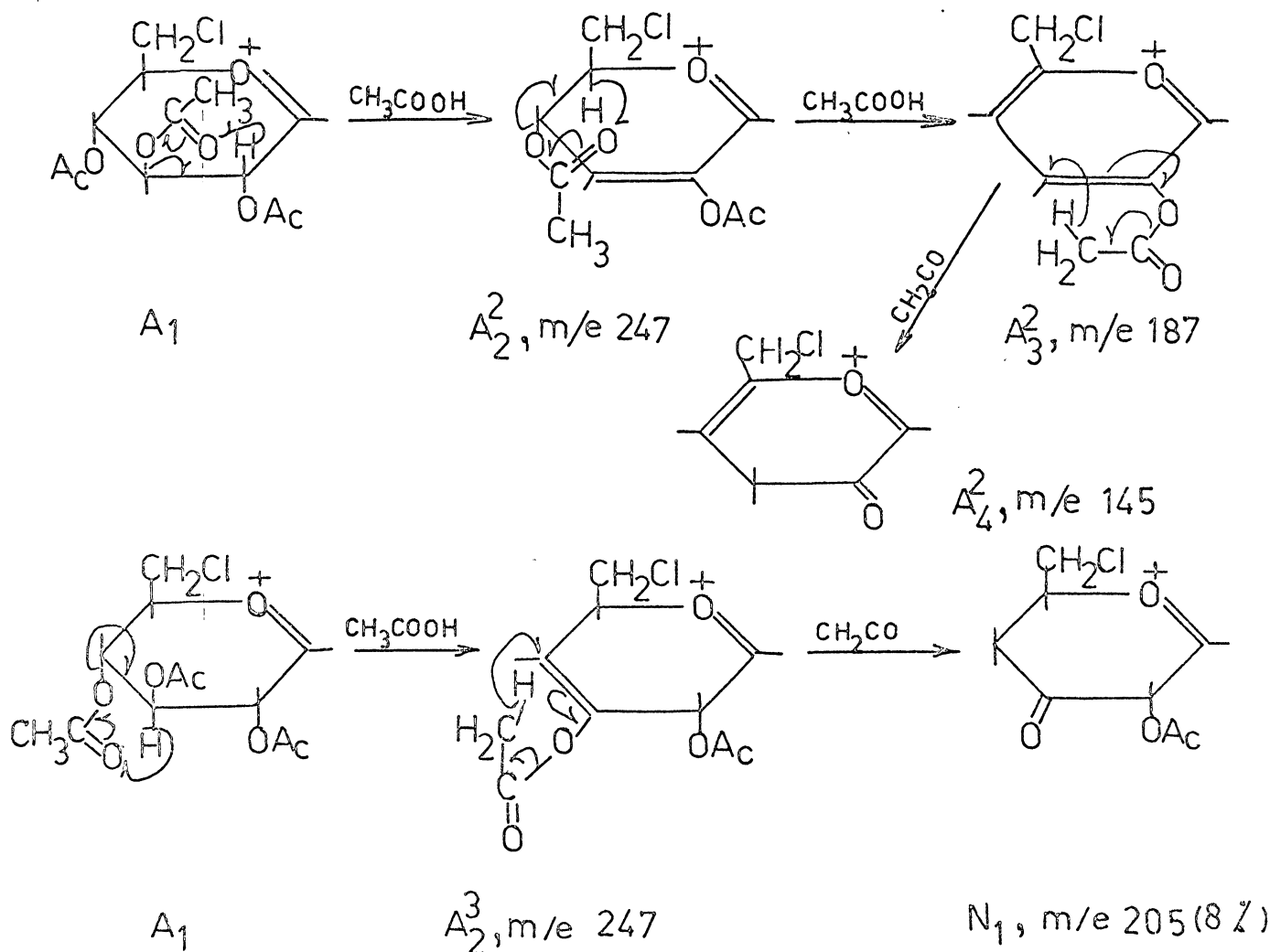
A) Número de átomos de cloro do fragmento, comprovado pela abundância isotópica.

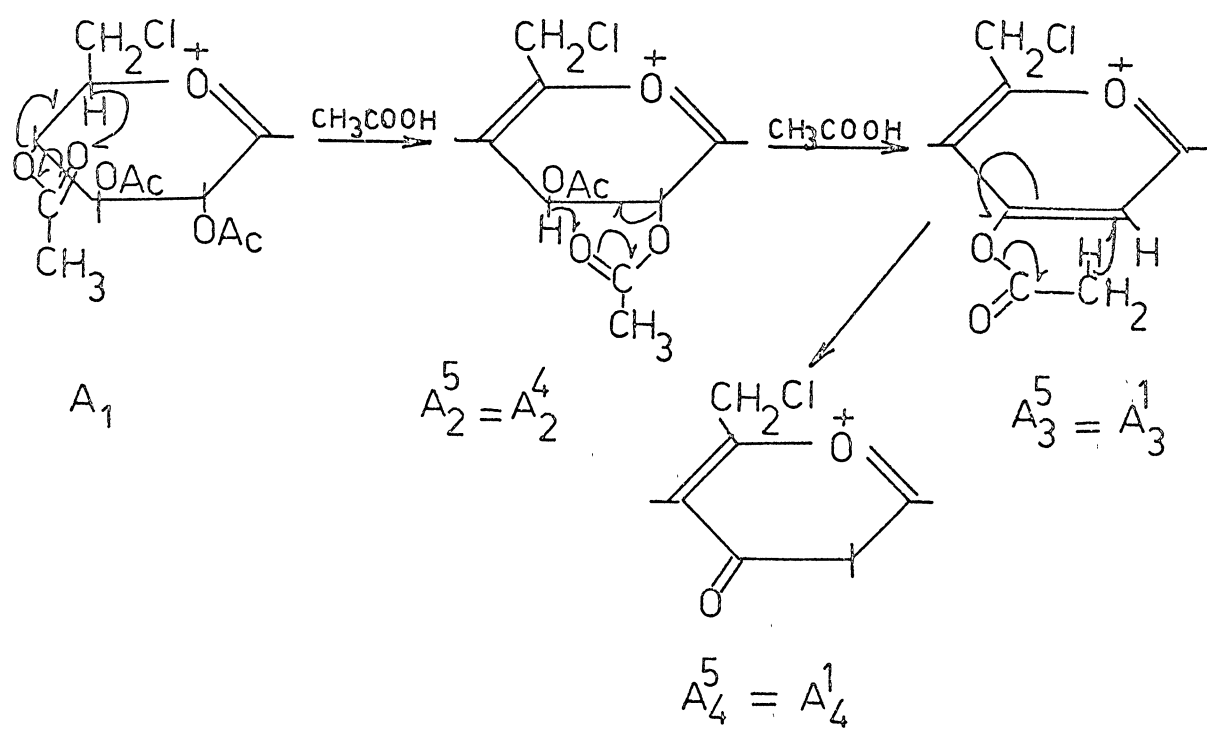
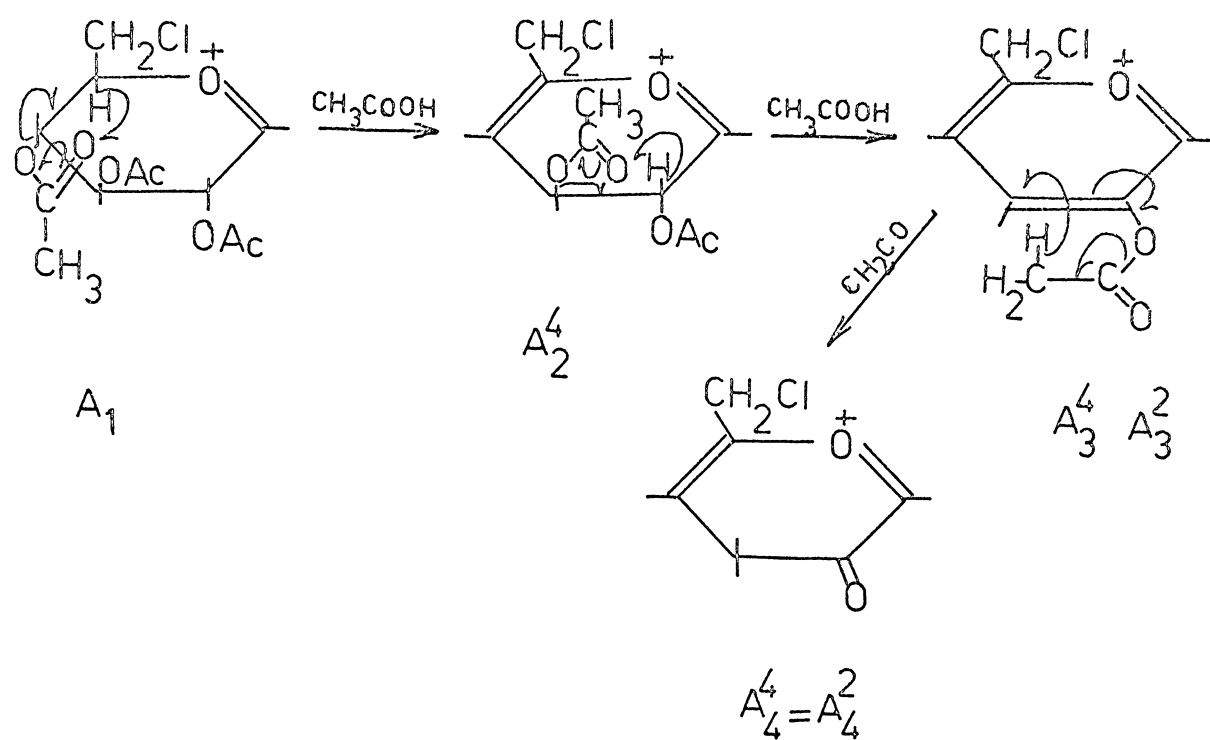
a) Foram omitidos os fragmentos isotópicos.

A presença de um grupo acetoxila ligado a carbono sp^2 (dupla ligação) de A_3^1 favorece um deslocamento conjugado de elétrons, acarretando a perda de ceteno e originando o íon A_4^1 .



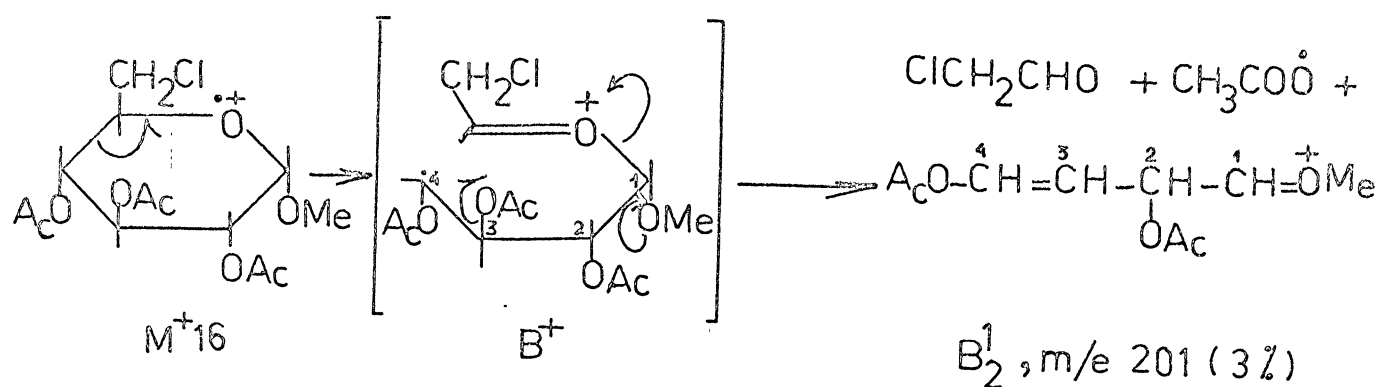
O mecanismo descrito anteriormente para a obtenção do íon A_2^1 , A_3^1 , A_4^1 , explica também a formação dos demais íons isoméricos da série A, a partir do íon $M^+ 16$. O fragmento A_2^3 não pode eliminar ácido acético, como ocorre com os seus isômeros A_2^1, A_2^3, A_2^4 , devido a dificuldade de migração de um átomo de hidrogênio para a carbonila do grupo acetoxila. Todavia, a presença de um grupo acetoxila em carbono com dupla ligação favorece a eliminação de ceteno deste íon (A_2^3), originando o íon N_1 .



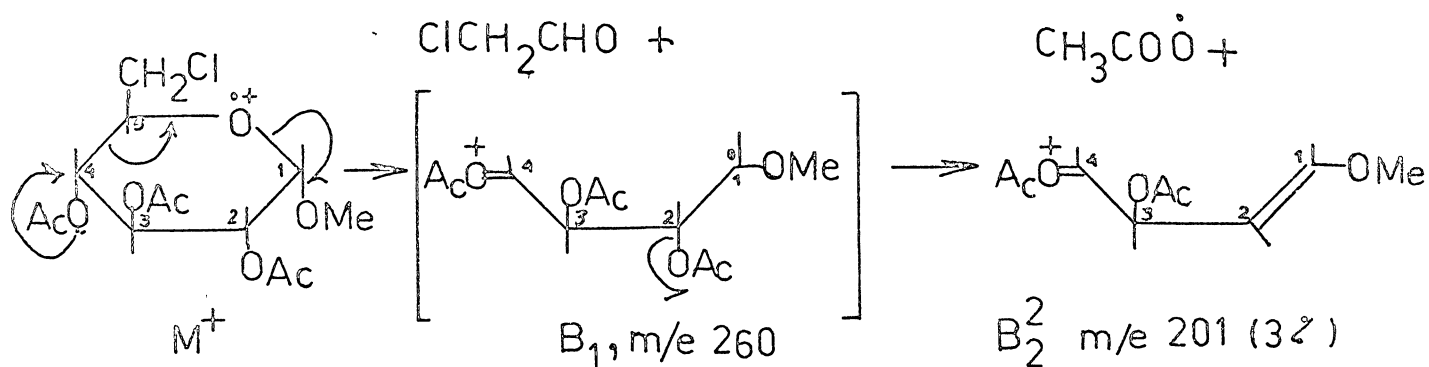


Série B

Esta série se inicia pelo rompimento da ligação química entre os carbonos C-4 e C-5 do íon M16, formando o íon B, o qual é muito instável e se fragmenta, com eliminação dos carbonos C-5 e C-6 e do átomo de oxigênio do anel, dando origem ao íon B_2^1 .



A fragmentação desta série também pode se processar por um mecanismo diferente daquele descrito para a obtenção de B_2^1 . Neste caso há formação do íon B_1 , muito instável, o qual dá origem ao íon B_2^2 pela eliminação do radical acetato.

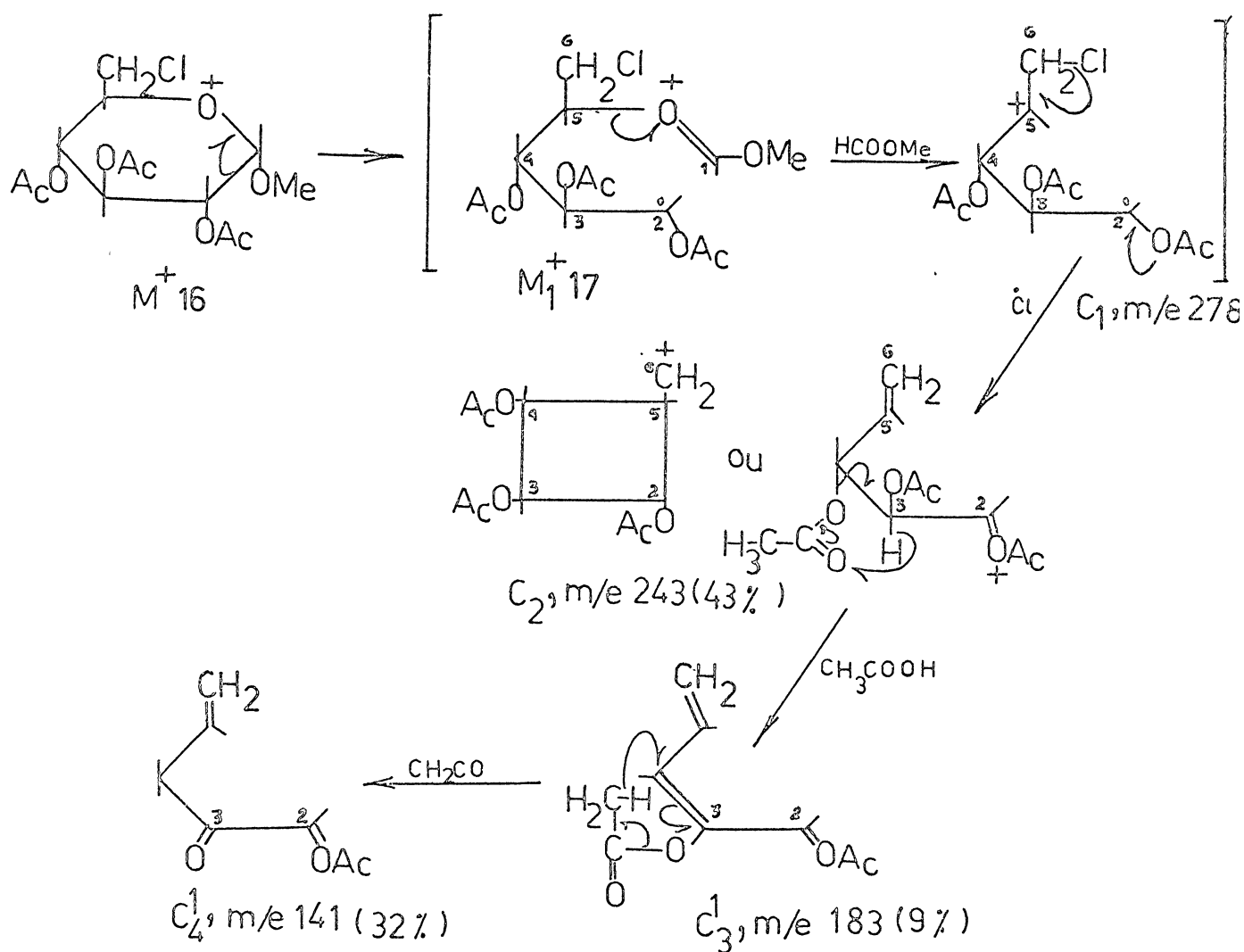


Embora essas duas vias produzam os íons isoméricos B_2^1 e B_2^2 , ($m/e \ 201$), o mecanismo mais provável seria o segundo, em virtude de que o íon B_2^1 favoreça a eliminação de ceteno, o que não ocorreu (ausência do fragmento $B_2^1 - CH_2CO$).

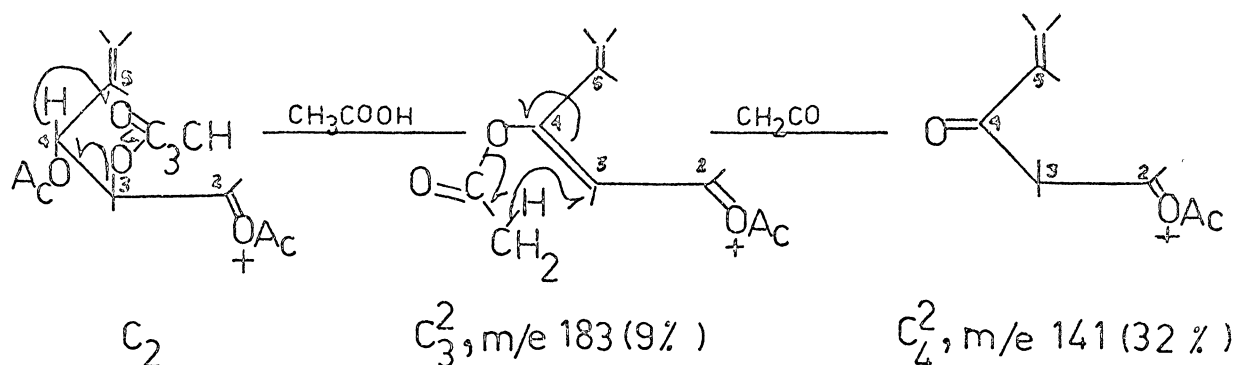
Série C

Esta série começa com o rompimento da ligação química entre os carbonos C-1 e C-2 do íon $M_1^{+}16$ formando inicialmente o íon $M_1^{+}17$, m/e 338, muito instável o qual dá origem ao íon C_1 (abundância 2%) pela perda de formiato de metila. A eliminação de um átomo de cloro do íon C_1 origina o íon C_2 bastante abundante, para o qual foram propostas duas alternativas estruturais, semelhantes àsquelas obtidas por Kochetkov e Chizhov (22), no mecanismo de eliminação do grupo metoxila do carbono C-6, de açúcares não halogenados.

A perda sucessiva de ácido acético do carbono C-4 e ceteno do carbono C-3, do íon C_2 , dá respectivamente os íons C_3^1 e C_4^1 .

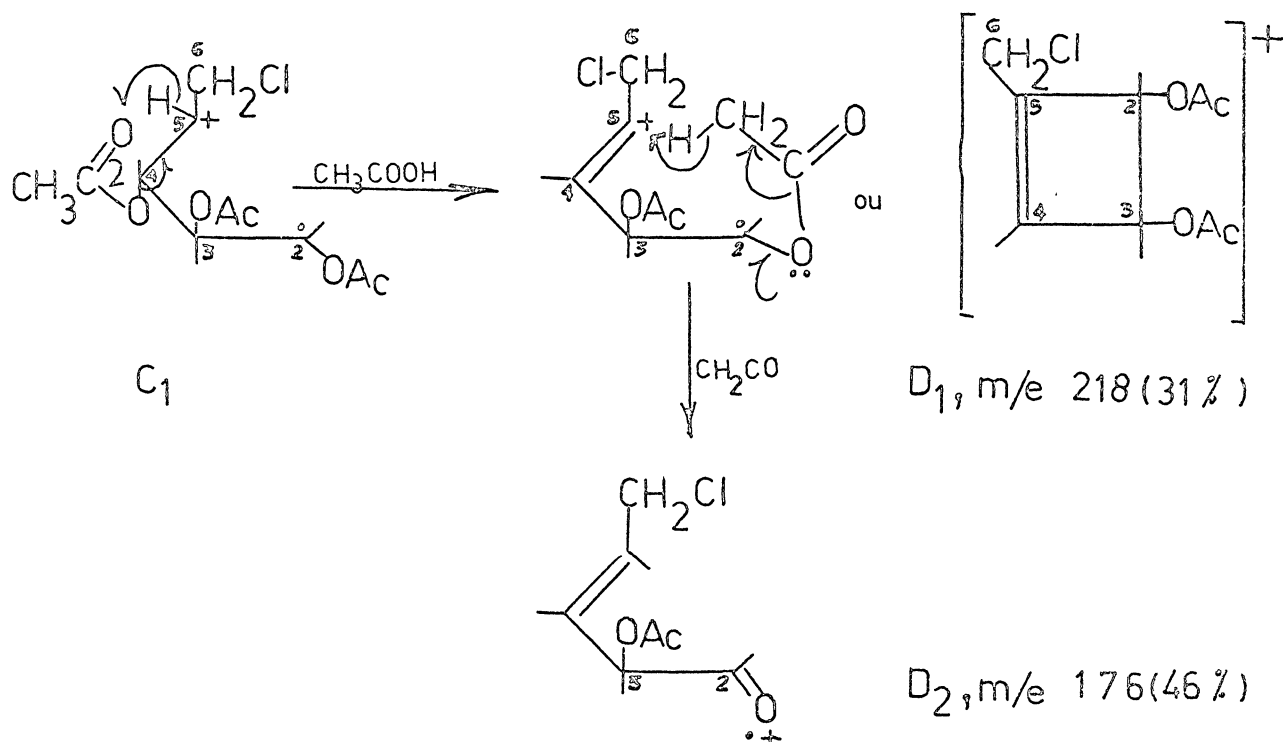


Uma outra alternativa de fragmentação do íon C_2 se dá por um mecanismo semelhante ao descrito anteriormente, em que a eliminação do ácido acético do carbono C-3 e ceteno do carbono C-4 forma os íons C_3^2 e C_4^2 , respectivamente.



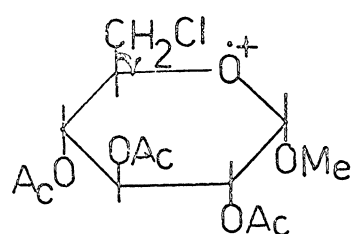
Série D

A fragmentação desta série se inicia também do íon C_1 com a formação dos íons D_1 e D_2 , pela eliminação subsequente de ácido acético e ceteno.

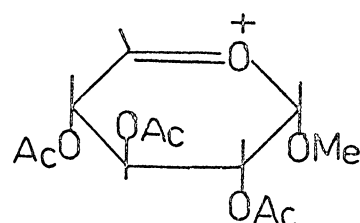
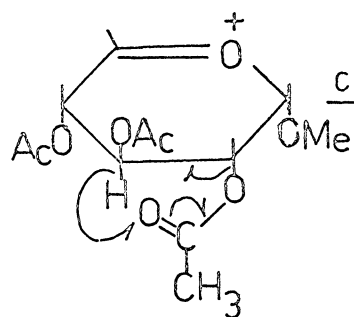
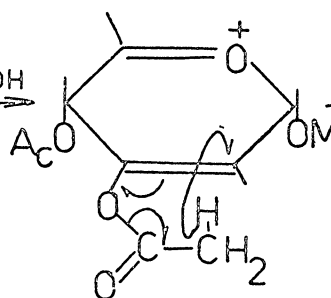
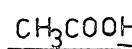
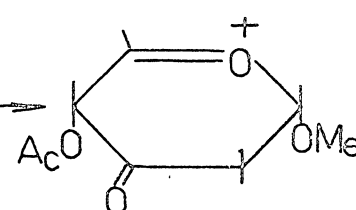
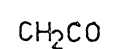
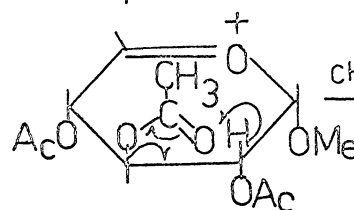
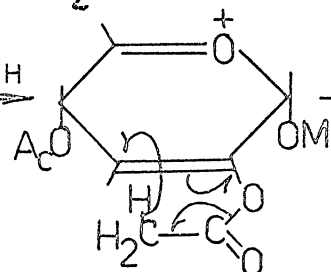
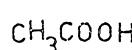
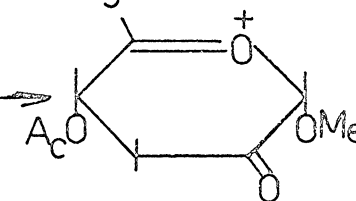
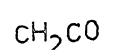
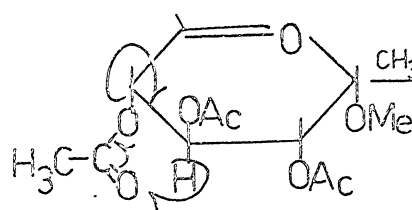
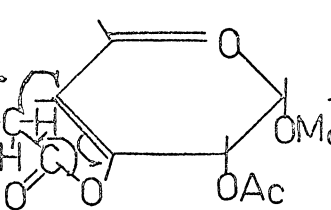
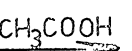
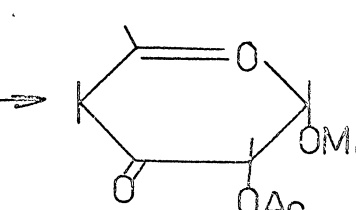


Série 2

Os fragmentos desta série, embora muito instáveis, são de importância fundamental na identificação de hexapirranocídeos substituídos no carbono C-6. A eliminação do carbono C-6 do íon $M^{+}16$ (efeito indutivo do cloro), dá origem a E_1 , o qual, por um mecanismo semelhante ao descrito para a fragmentação do íon C_2 , forma os íons isoméricos E_2^1, E_2^2, E_2^3 e E_3^1, E_3^2, E_3^3 .



M 16

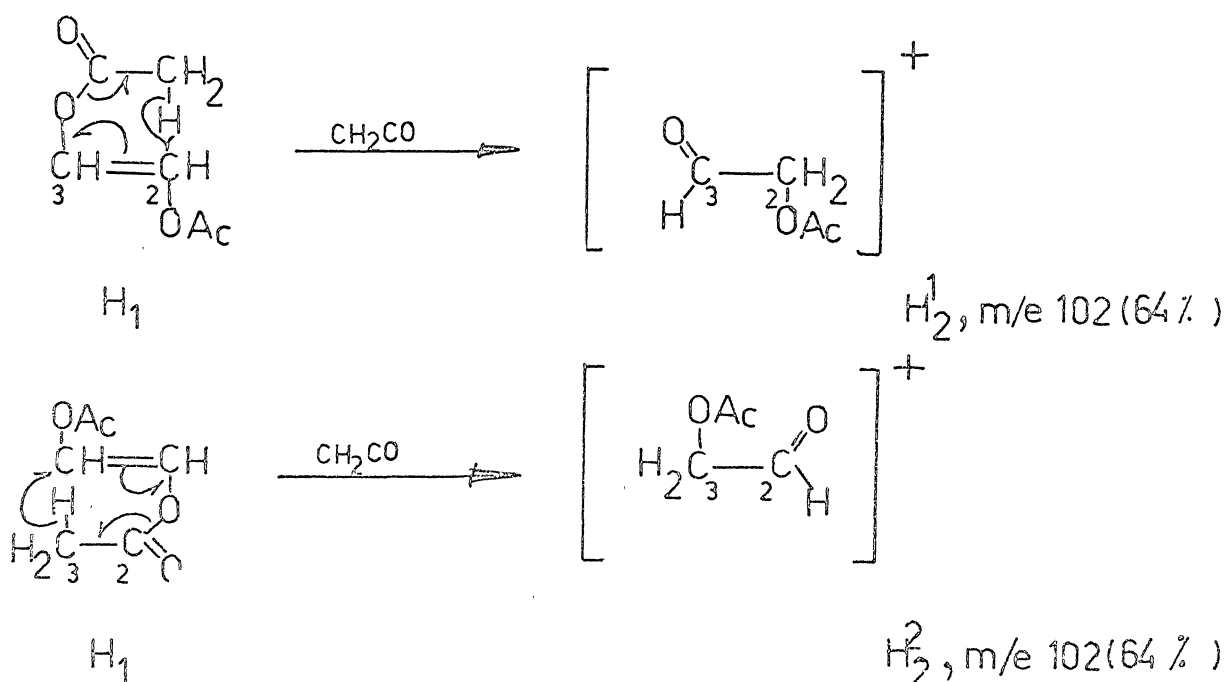
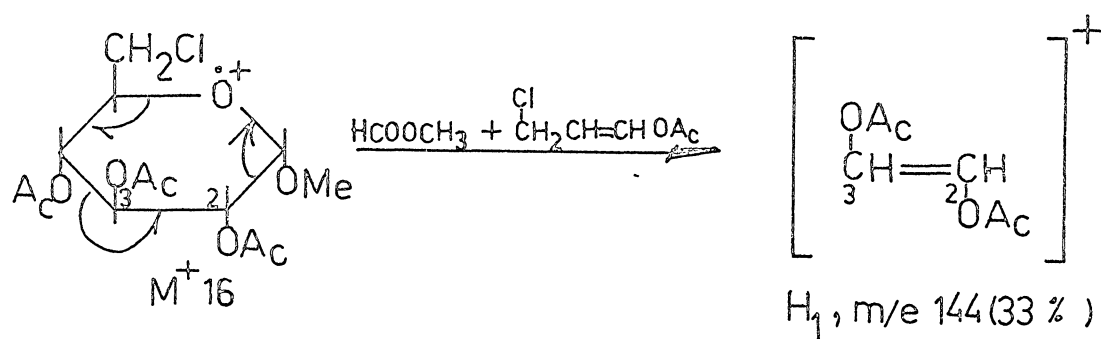
 E_1 , m/e 289(1%) E_1  E_2^1 , m/e 229(4%) E_3^1 , m/e 187(9%) E_1  E_2^2 , m/e 229(4%) E_3^2 , m/e 187(9%) E_1  E_2^3 , m/e 229(4%) E_3^3 , m/e 187(9%)

Série II

O deslocamento conjugado de elétrons explica a cisão das ligações químicas entre os carbonos C-1 e C-2, C-3 e C-4, C-5 e oxigênio do anel no íon M⁺16, e a subsequente formação do íon H₁.

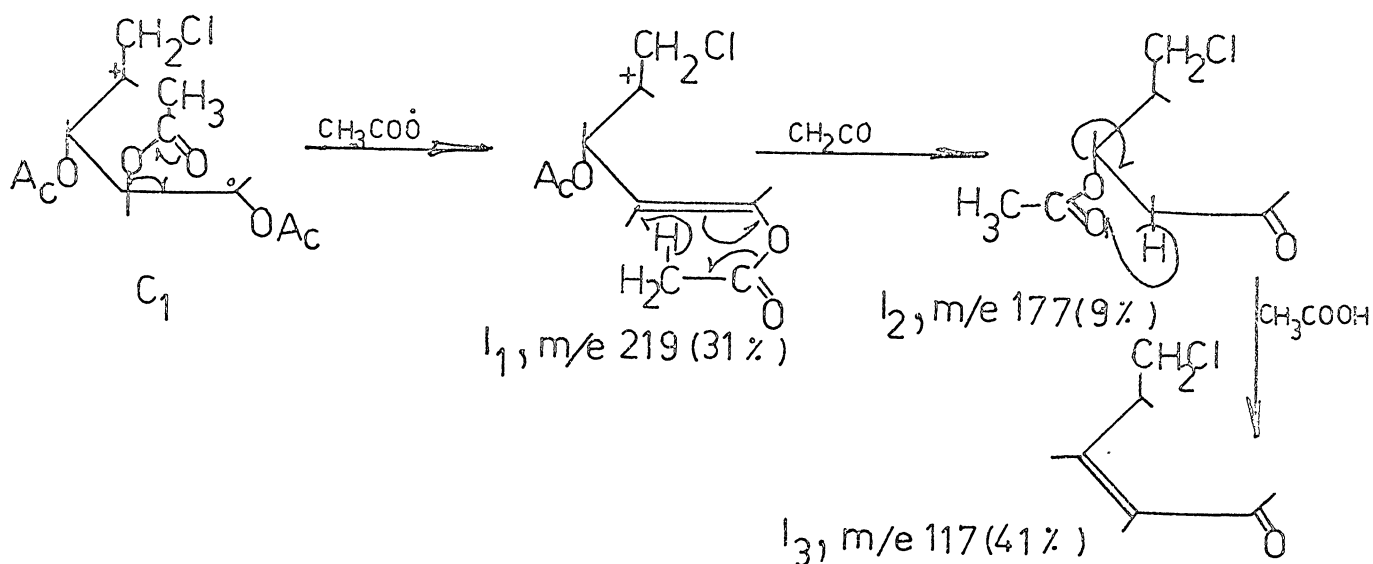
Um mecanismo semelhante para a formação do íon H₁, já fora sugerido anteriormente por Kochetkov e Chizhov (22), Jongh e Bieman (23) e Bieman, Jongh e Schnoes (24), no estudo da fragmentação de açúcares não halogenados.

A eliminação de ceteno dos carbonos C-2 ou C-3 do íon H₁, dá origem aos íons H₂¹ ou H₂², respectivamente.

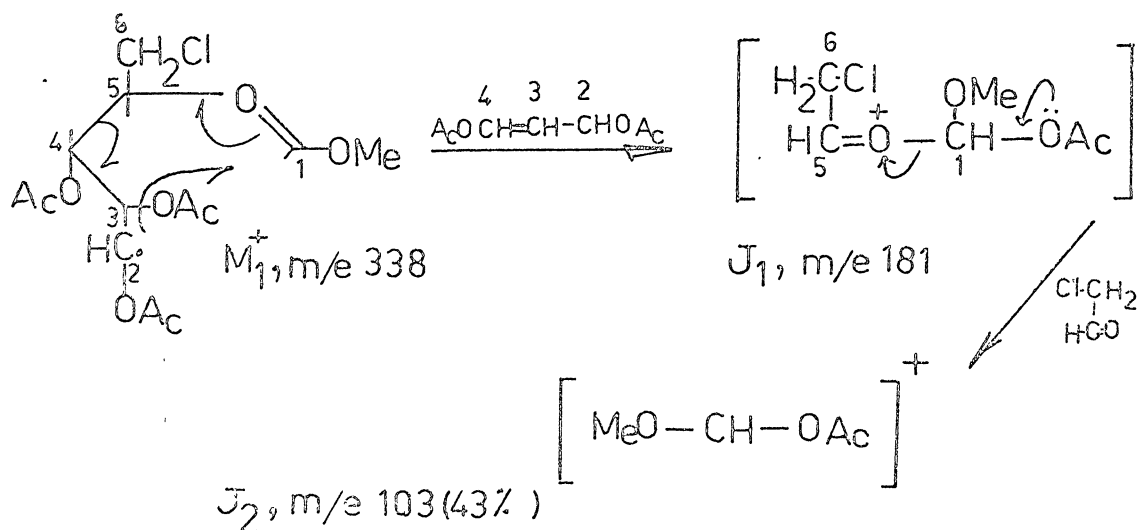


Série I

A perda do radical acetoxila do íon C_1 forma o íon I_1 , o qual pela eliminação de ceteno e de ácido acético, dá os íons I_2 e I_3 , respectivamente (ver série C de M 16). A presença de um átomo de cloro nestes íons é confirmada pela abundância isotópica (I_1 m/e 221, I_2 m/e 179, I_3 m/e 119).

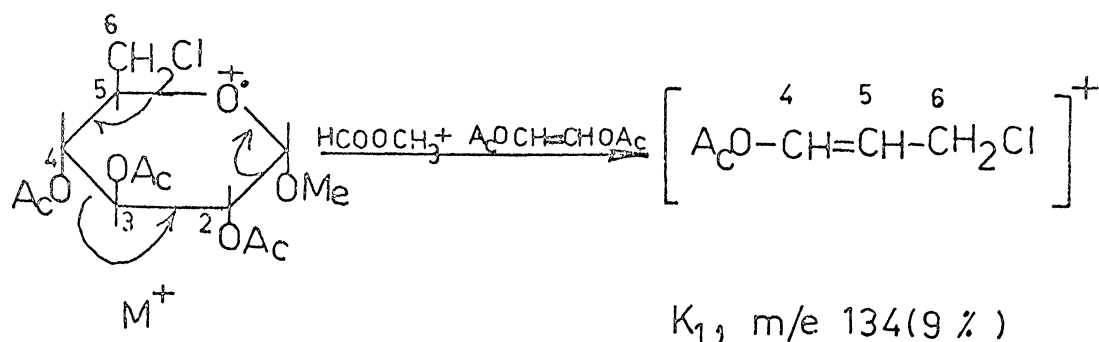
Série J

Esta série é caracterizada pelo fragmento J_2 , originado do íon J_1 , pela eliminação de cloroacetaldeído, m/e 78. Um deslocamento conjugado de elétrons de M_1 (ver série C) explica a formação do íon J_1 , pela cisão da ligação química entre os carbonos C-4 e C-5, e migração do grupo acetoxila de C-3 para C-1.

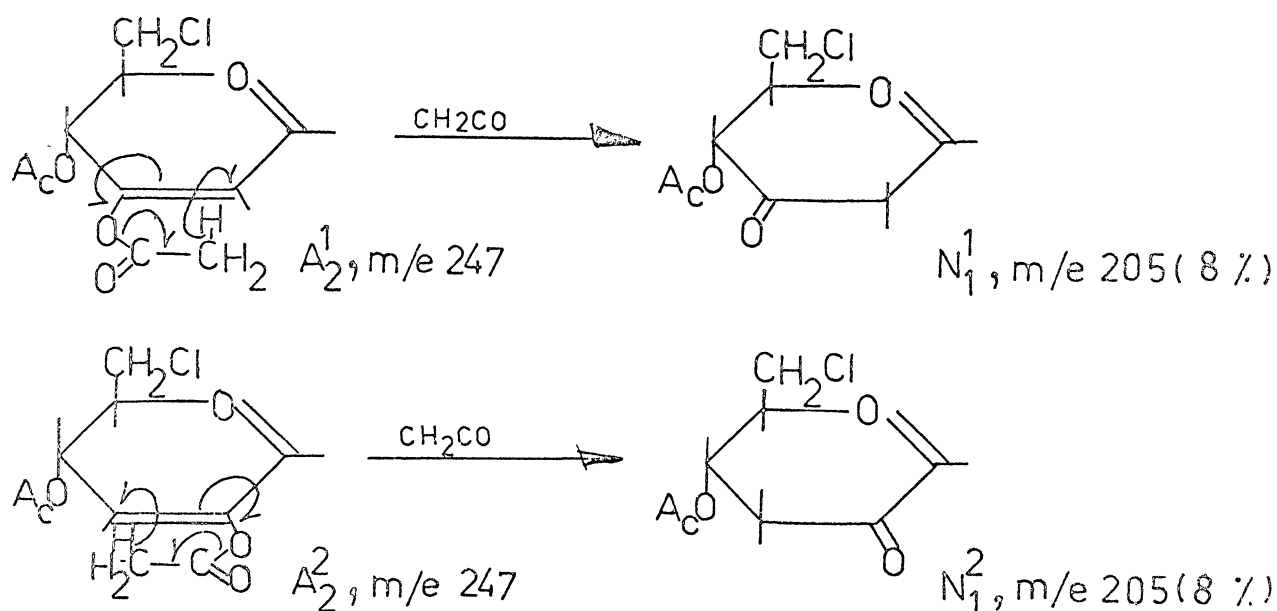


Série K

Um mecanismo semelhante ao descrito para a série H explica a formação do íon K_1 (m/e 134). A presença de um fragmento de m/e 136 numa relação de 1:3 em relação a K_1 , confirma a existência de um átomo de cloro em K_1 (abundância isotópica).

Série N

Os fragmentos desta série são obtidos a partir dos íons A_2^1 e A_2^2 pela perda de ceteno, e formação dos íons N_1^1 e N_1^2 , respectivamente. A presença de um fragmento de m/e 207 numa relação de 1:3 em relação a N_1 (m/e 205) confirma a existência de um átomo de cloro neste íon.



b. Mecanismo de fragmentação do metil 2,3-di-O-acetil-4,6-dicloro- α -D-galactopiranosídeo.

Na tabela II se encontram os valores de m/e dos fragmentos obtidos do espectro de massa deste açúcar .

Série A

O íon molecular **18** obtido do composto **17** , apresenta um mecanismo de fragmentação por impacto eletrônico semelhante ao íon **M 16** . Entretanto a presença de um átomo de cloro em posição axial no carbono C-4 deu mais estabilidade aos fragmentos desta série, tornando-os mais abundantes do que os fragmentos do derivado monoclorado (tabela I e II). Obviamente a presença de um halogênio em C-4 não permite a formação dos íons A_4 , mas não impede a formação de A_2 e A_3 .

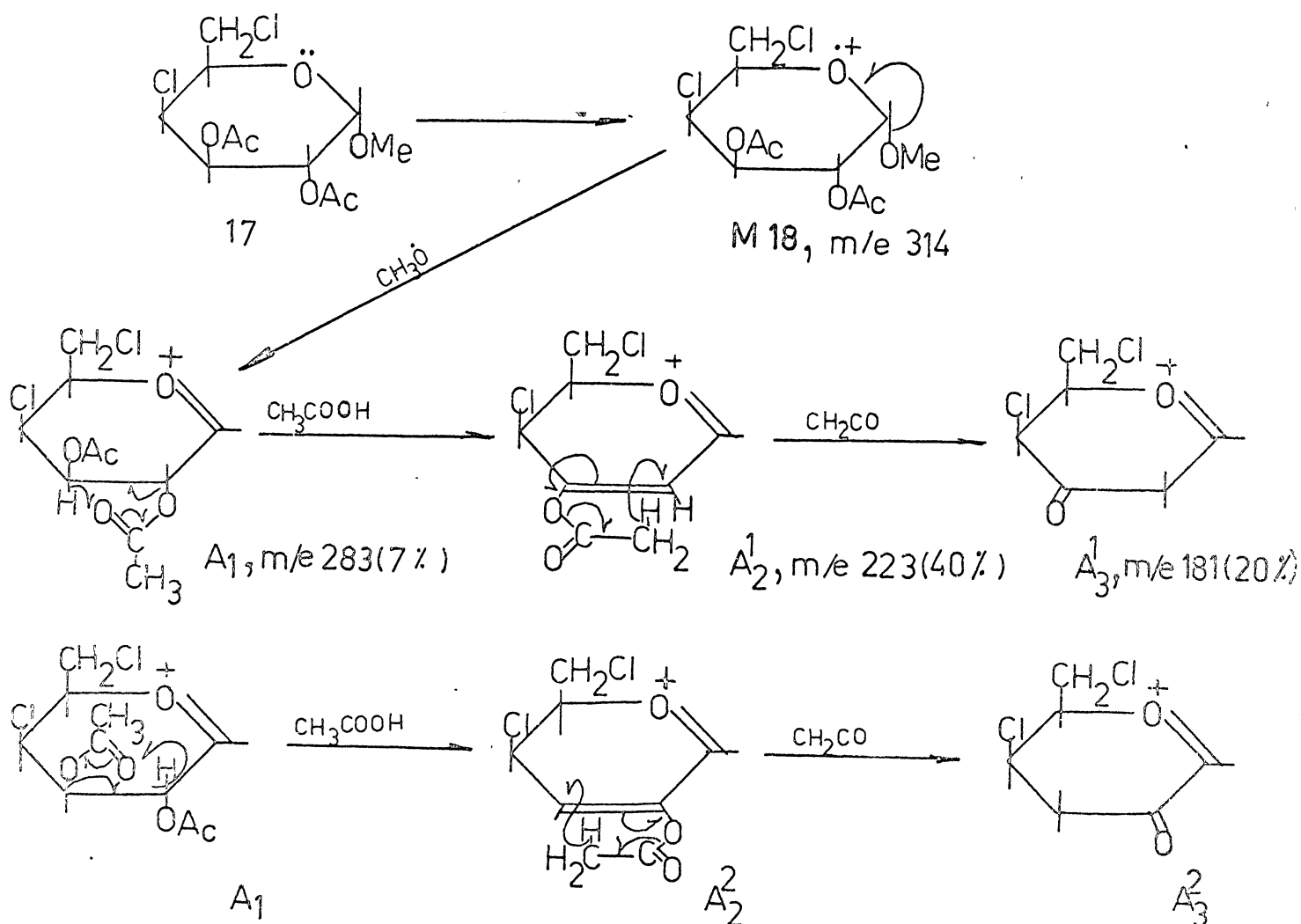


TABELA II

Resultados do espectro de massa do metil 2,3-di-O-acetil-4,6-di-cloro-4,6-dideoxi- α -D-galactopiranosídeo, baseados no isótopo ^{35}Cl .

m/e	Fragmento	A	Abundância %
314	M^+	2	0
283	$\text{A}_1, \text{M}^+ - \text{MeO}$	2	7
265	$\text{E}_1, \text{M}^+ - \text{CH}_2\text{Cl}$	1	2
255	$\text{B}_1, \text{M}^+ - \text{MeCOO}$	2	12
254	$\text{C}_1, \text{M}^+ - \text{HCOOMe}$	2	0
223	$\text{A}_2, \text{A}_1 - \text{MeCOOH}$	2	40
219	$\text{C}_2, \text{C}_1 - \text{Cl}$	1	100
195	$\text{I}_1, \text{C}_1 - \text{MeCOO}$	2	61
183	$\text{C}_3, \text{C}_2 - \text{HCl}$	0	21
181	$\text{A}_3, \text{A}_2 - \text{CH}_2\text{CO}$	2	20
177	$\text{B}_2, \text{B}_1 - \text{CH}_2\text{ClCHO}$	1	64
169	$\text{E}_2, \text{E}_1 - (\text{HCl}, \text{MeCOOH})$	0	21
153	$\text{I}_2, \text{I}_1 - \text{CH}_2\text{CO}$	2	7
144	$\text{H}_1, \text{AcOCH} = \text{CHOAc}$	0	41
141	$\text{C}_4, \text{C}_3 - \text{CH}_2\text{CO}$	0	30
133	$\text{F}_1, \text{Cl}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{OAc}^+$	1	12
127	$\text{E}_3, \text{E}_2 - \text{CH}_2\text{CO}$	0	11
117	$\text{I}_3, \text{I}_2 - \text{HCl}$	1	65
103	$\text{J}_2, \text{MeOCH}=\text{OAc}^+$	0	96
102	$\text{H}_2, \text{H}_1 - \text{CH}_2\text{CO}$	0	92
43	CH_3CO^+	0	>100

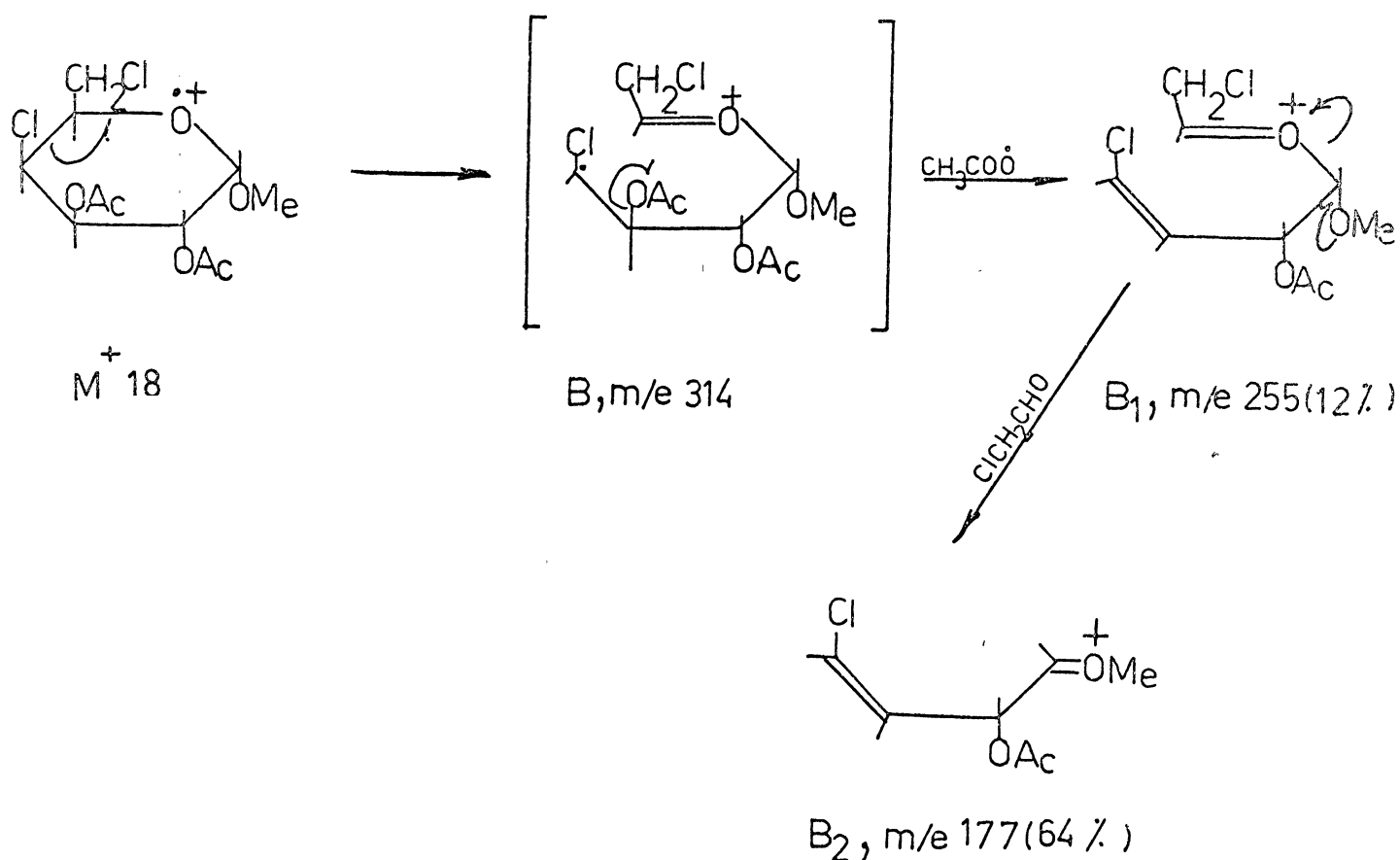
A) Número de átomos de cloro do fragmento, comprovado pela abundância isotópica.

a) Foram omitidos os fragmentos isotópicos.

No íon A_3^2 , a ligação dupla, entre o carbono C-1 e o oxigênio do anel, conjugada com a carbonila, confere mais estabilidade a este fragmento do que ao íon A_3^1 . Deste modo o íon A_3^2 contribui com maior parcela na abundância dos íons isoméricos A_3 (20 %).

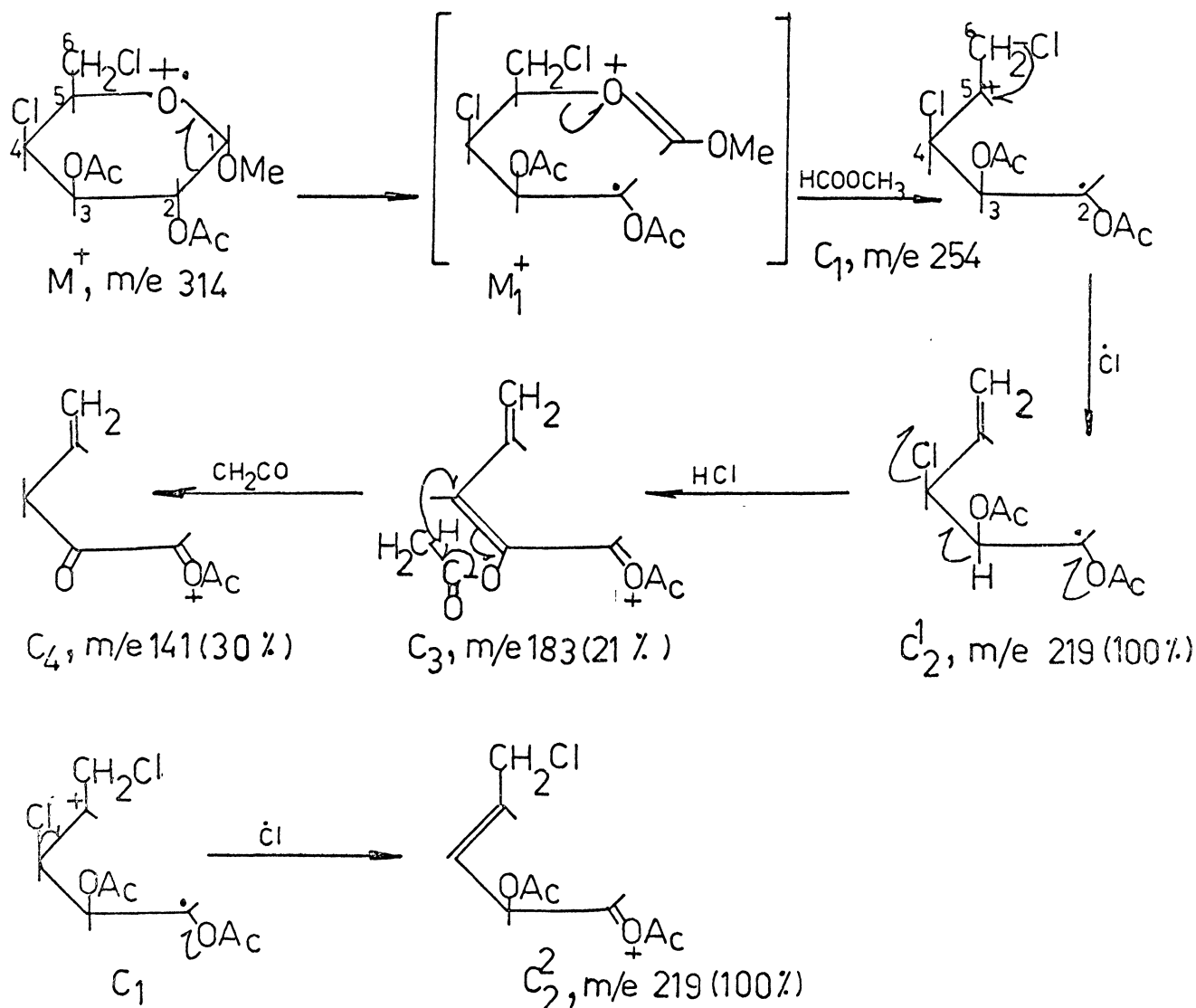
Série B

O efeito indutivo dos átomos de cloro nos carbonos C-4 e C-6, favorece o rompimento da ligação química entre os carbonos C-4 e C-5 do íon M18 e os íons clorados assim obtidos (B_1 e B_2), são mais estáveis do que os íons correspondentes obtidos de M16 (ver abundâncias relativas nas tabelas I e II).



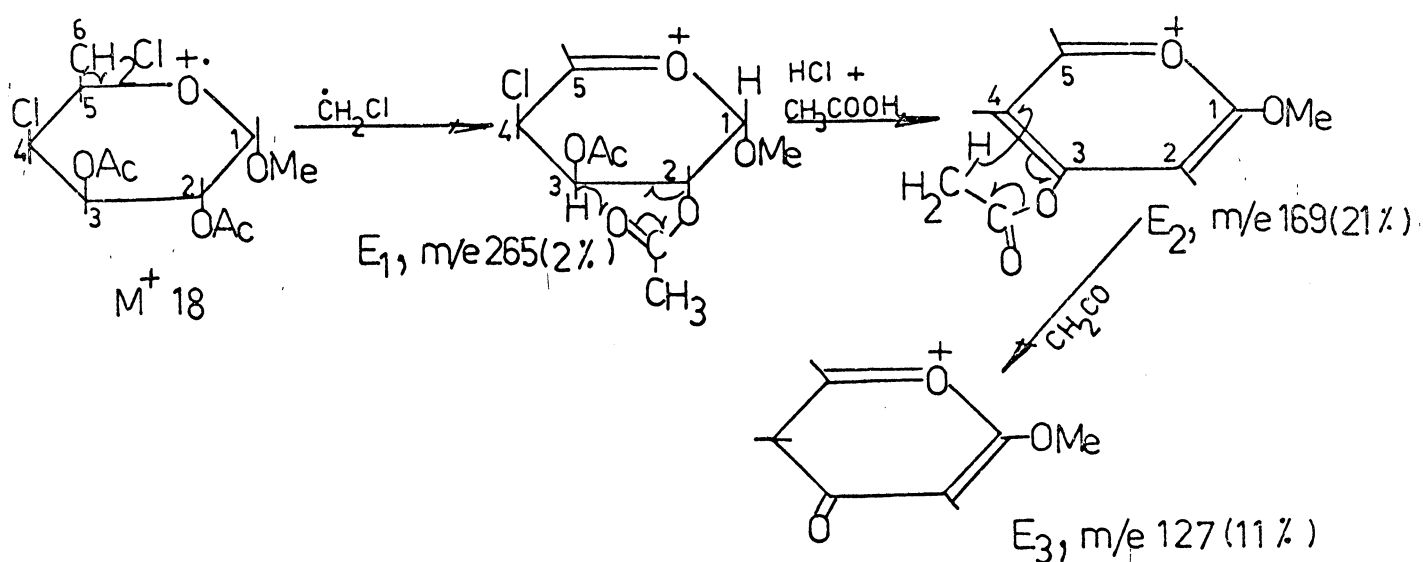
Série C

Para a obtenção da série C, o íon M18 se fragmenta de maneira semelhante a descrita para o íon M16. Os primeiros fragmentos desta série são instáveis (M_1 e C_1), mas a perda de cloro do carbono C-6 ou do carbono C-4, de C_1 , produz fragmentos muito estáveis, C_2^1 e C_2^2 , considerados por isso o pico base (100%). A grande estabilidade destes fragmentos, é atribuída principalmente à impossibilidade do íon C_2^2 não permitir a eliminação de HCl, pois o átomo de hidrogênio do carbono C-5 não se rearranja com o cloro do carbono C-6 (para a formação de HCl), devido a conformação estrutural dada pela ligação dupla entre os carbonos C-4 e C-5 (sp^2). Por outro lado, no íon C_2^1 , o carbono C-3 (sp^3) possui um átomo de hidrogênio que pode sofrer rearranjo com o cloro de C-4, favorecendo a eliminação de HCl, para dar o íon C_3 . Em seguida, este perde ceteno e forma o íon C_4 .

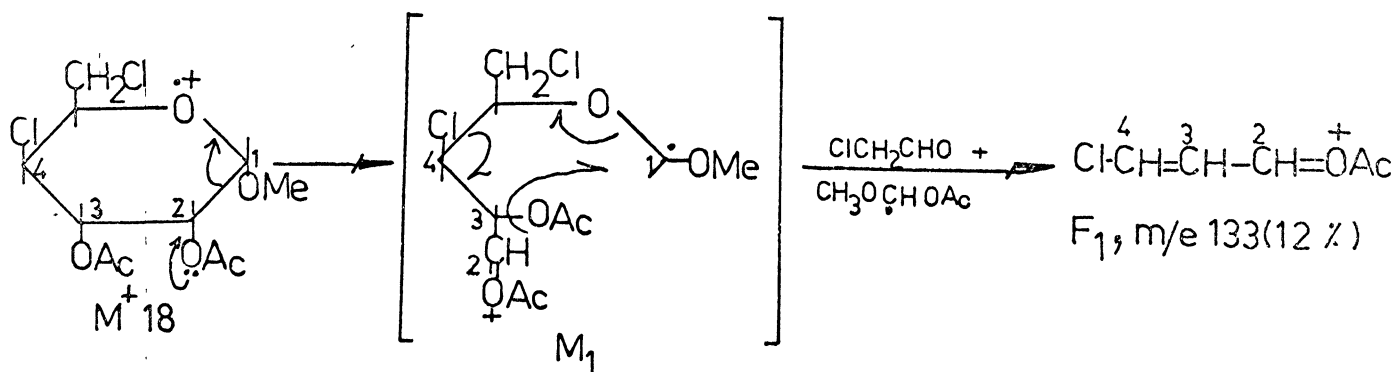


Série E

O rompimento da ligação química entre os carbonos C-5 e C-6 do íon M^{+18} (efeito indutivo do cloro), com eliminação do radical $\dot{C}H_2Cl$ dá origem ao fragmento instável E_1 . Em seguida há eliminação simultânea de CH_3COOH e HCl , por um deslocamento conjugado de elétrons em E_1 , que é estabilizado pelas ligações duplas conjugadas entre os carbonos C_1 e C_2 , C_3 e C_4 , C_5 e oxigênio do anel. Finalmente o íon E_2 perde ceteno, conduzindo ao íon E_3 .

Série F

O deslocamento conjugado de elétrons em M_1^{+} , originado de M^{+18} , dá o íon F_1 . A presença do átomo de cloro neste íon, comprovada pela abundância isotópica (m/e 135), deslocaliza elétrons da dupla ligação (efeito indutivo), tornando F_1 menos estável do que o íon correspondente originário de M^{+16} . (Tabelas I e II).

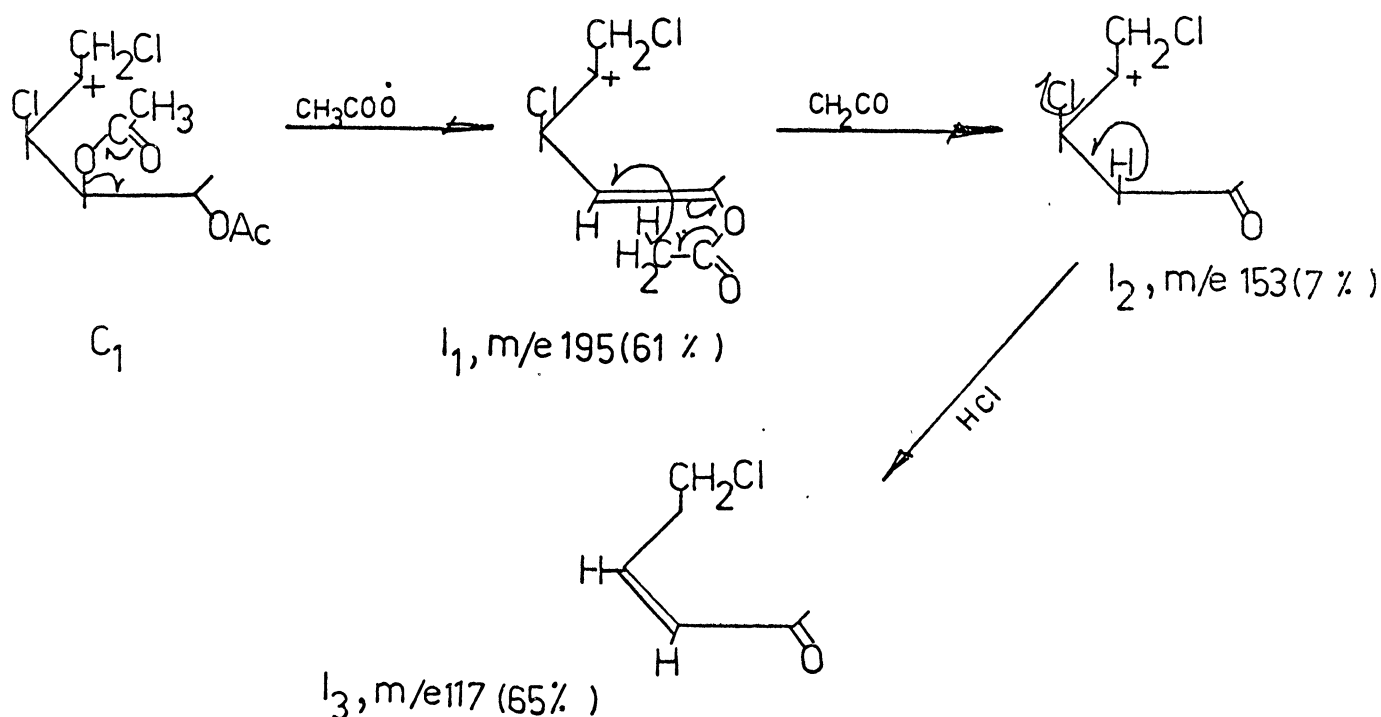


Série H

O mecanismo de fragmentação dos íons desta série (H_1, H_2^1 e H_2^2) é semelhante aquele descrito para a série H, obtida do íon M16. (tabelas I e II).

Série I

O mecanismo de fragmentação do íon C_1 (obtido na série C) para dar origem a série I, é semelhante ao descrito para a correspondente fragmentação de M16. A presença de dois átomos de cloro nos fragmentos I_1 e I_2 , foi comprovada pela abundância isotópica. De fato, os íons I_1 de m/e 195, 197, 199 estão numa relação de abundância de 9:6:1. A mesma relação foi observada para o íon I_2 de m/e 117, 119 e 121. A eliminação de HCl (H do carbono C-3 e Cl do carbono C-4) do íon I_2 (m/e 117) dá origem a I_3 . A abundância isotópica confirmou a presença de apenas um átomo de cloro neste íon (m/e 119) como era previsto. Este íon é isômero ao íon I_3 obtido da fragmentação de M16.



Série J

O mecanismo de formação dos íons desta série (J_1 e J_2) já foi descrito para a série J ; obtida do íon M16 (Tabelas I e II).

c. Mecanismo de fragmentação do metil 2,3-di-O-metil-4,6-dicloro-4,6-dideoxi- α -D-galactopiranosídeo.

Na tabela III se encontram os valores de m/e dos fragmentos obtidos do espectro de massa deste açúcar.

Série A

O mecanismo de fragmentação do íon M20 não envolve o rearranjo do tipo Mc Lafferty. Há apenas a eliminação do grupo metoxila do carbono C-1 (A_1) e a subsequente perda de metanol de C-2 ou de C-3, dando os íons isoméricos A_1^1 e A_2^2 , respectivamente. A presença de 2 átomos de cloro nestes íons é comprovada pela abundância isotópica, pois a relação de abundâncias de 9:6:1 foi observada para os íons A_1 (m/e 227,229,231) e A_2 (m/e 195,197,199).

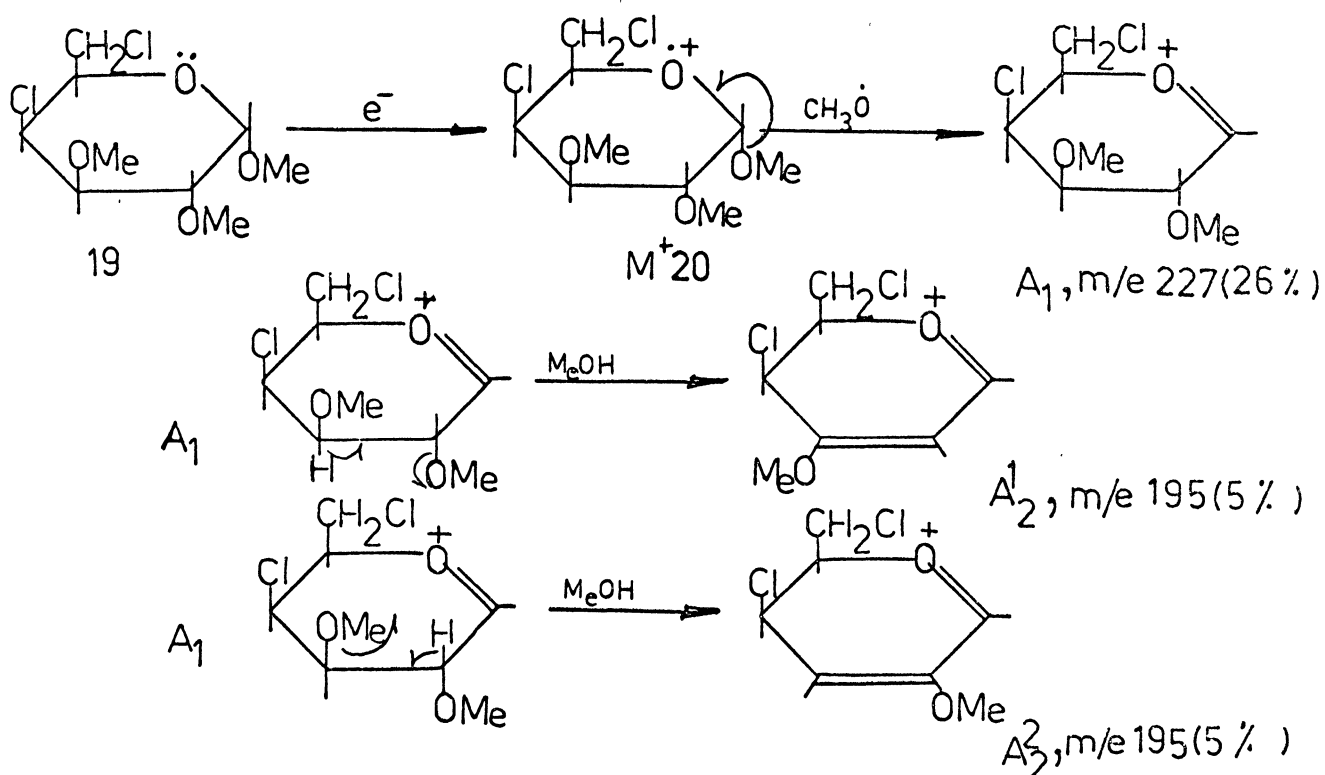


TABELA III

Resultados do espectro de massa do metil 2,3-di-O-metil-4,6-di-cloro-4,6-di-deoxi- α -D-galactopiranosídeo, baseados no isótopo ^{35}Cl .^a

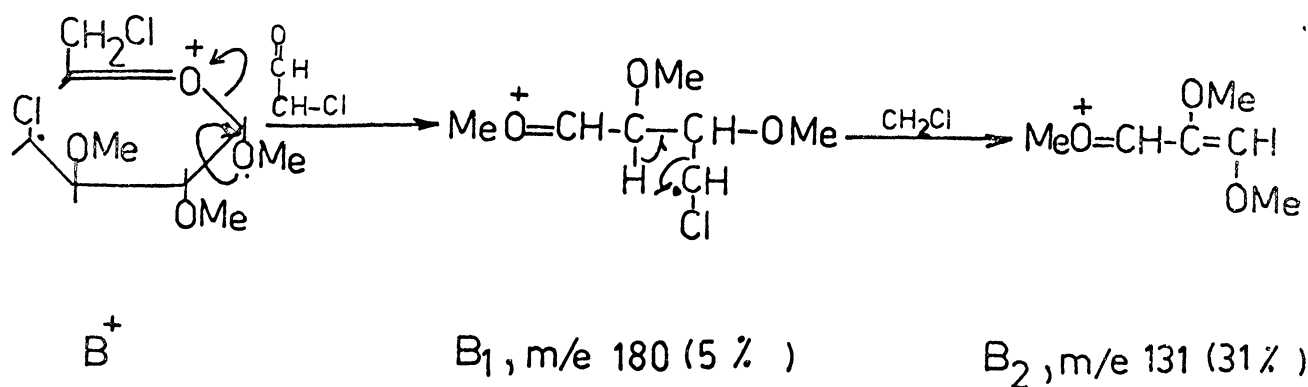
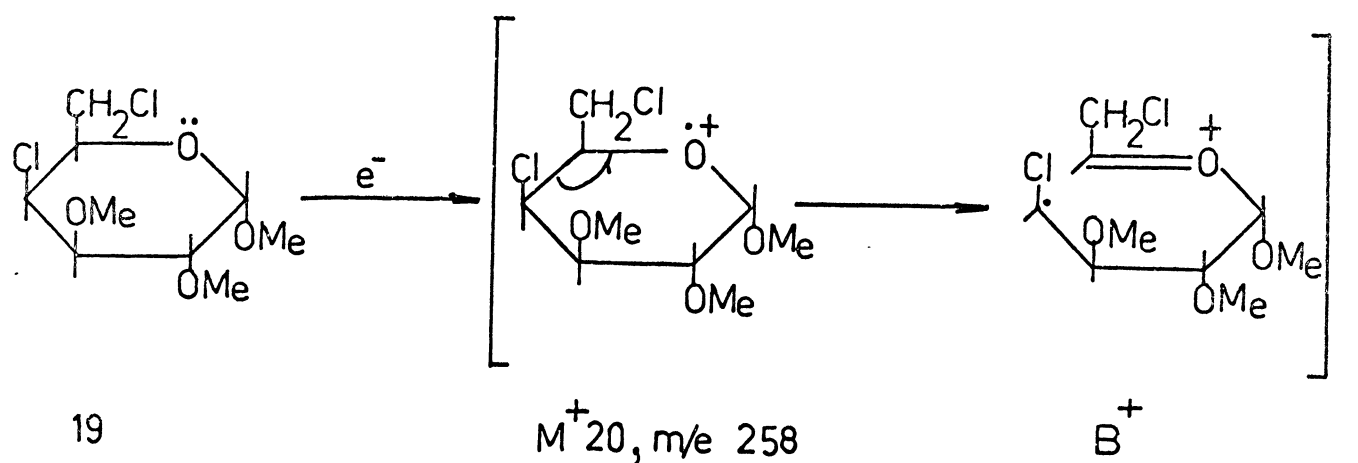
m/e	Fragmento	A	Abundância %
258	M^+	2	0
227	$\text{A}_1, \text{M}^+ - \text{Me}\ddot{\text{O}}$	2	26
198	$\text{C}_1, \text{M}^+ - \text{HCOOMe}$	2	0
195	$\text{A}_2, \text{A}_1 - \text{MeOH}$	2	5
180	$\text{B}_1, \text{M}^+ - \text{CH}_2\text{ClCHO}$	1	5
177	$\text{E}_2, \text{M}^+ - (\text{CH}_2\text{Cl}, \text{MeOH})$	1	5
163	$\text{C}_2, \text{C}_1 - \text{Cl}\dot{\text{C}}$	1	18
153	$\text{J}_1, \text{B}_1 - \text{ClCH}=\text{CH}\dot{\text{C}}\text{HOMe}$	1	17
147	$\text{R}_1, \text{E}_1 - 2 \text{CH}_3\ddot{\text{O}}$	1	51
145	$\text{E}_3, \text{E}_2 - \text{HCOH}$	1	3
131	$\text{B}_2, \text{B}_1 - \text{CH}_2\text{Cl}$	0	31
119	$\text{C}_3, \text{C}_2 - \text{CH}_3\text{COOH}$	1	100
105	$\text{F}_1, \text{ClCH}=\text{CHCH}=\ddot{\text{O}}\text{Me}$	1	40
101	$\text{L}_1, \text{Me}\ddot{\text{O}}=\text{CHCH}=\text{CHOMe}$	0	81
92	$\text{K}_1, (\text{ClCH}=\text{CHOMe})^+$	1	18
88	$\text{H}_1, (\text{MeOCH}=\text{CHOMe})^+$	0	>100
75	$\text{J}_2, (\text{MeOCH}=\ddot{\text{O}}\text{Me})$	0	>100

A) Número de átomos de cloro do fragmento, comprovado pela abundância isotópica.

a) Foram omitidos os fragmentos isotópicos.

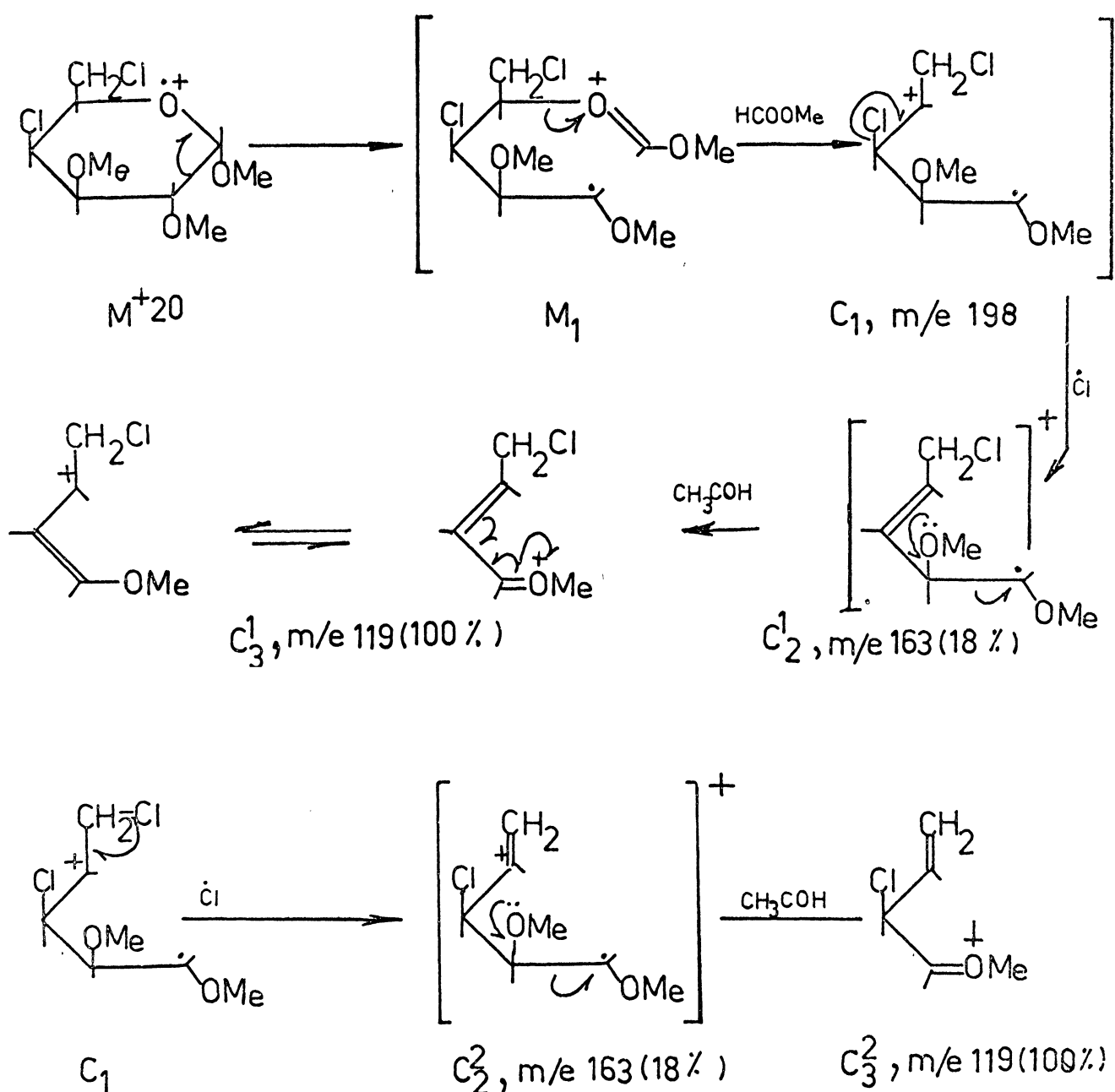
Série B

O mecanismo de formação do íon B^+ desta série é semelhante aquele descrito para o íon correspondente obtido de M18. O efeito indutivo do cloro do carbono C-6 e a deficiência de elétrons do oxigênio do anel, induz um deslocamento de elétrons como indicado no íon B^+ , provocando a eliminação de cloroacetaldeído. O íon B_1 assim formado perde o radical CH_2Cl , por influência do cloro do carbono C-4 e dá origem ao íon B_2 .



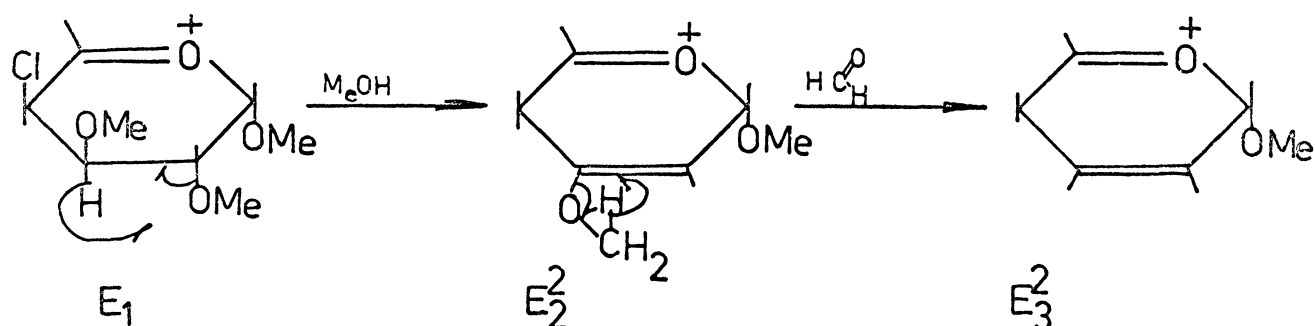
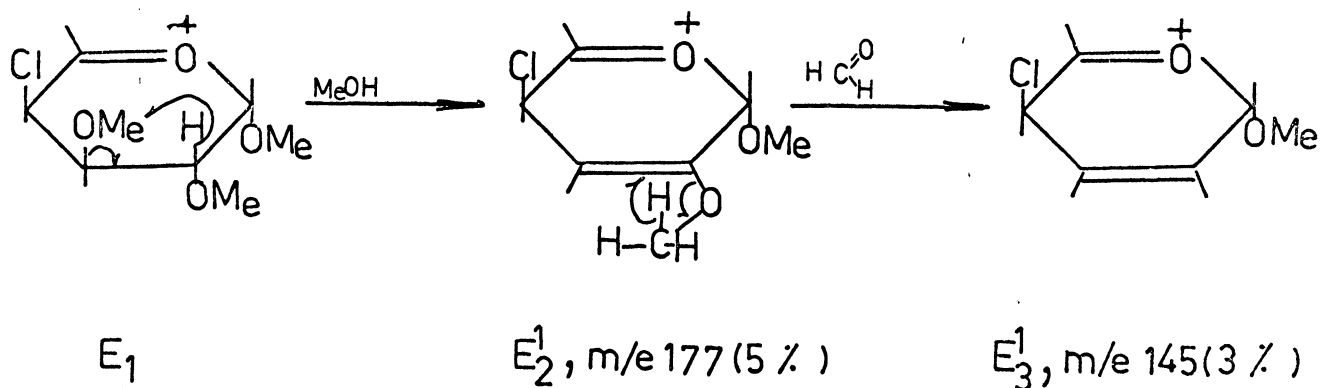
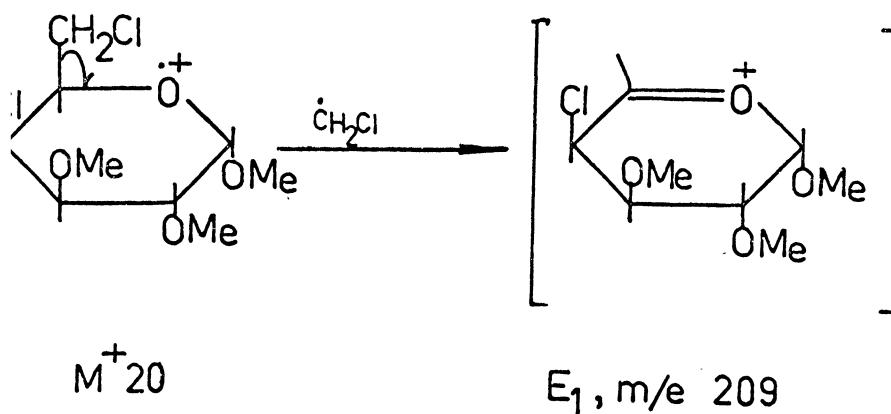
Série C

Como descrito anteriormente, os primeiros íons desta série (M_1 e C_1) são muito instáveis. A eliminação de cloro do carbono C-4 ou de C-6 do íon C_1 , dá origem aos íons C_2^1 e C_2^2 respectivamente (abundância de 18%). Estes íons perdem acetaldeído, conduzindo aos íons C_3^1 e C_3^2 , os quais constituem o pico base do espectro (abundância de 100%). Entretanto a existência de duas formas de ressonância para o íon C_3^1 , favorece a predominância deste íon na mistura isomérica. A abundância isotópica dos fragmentos desta série (119:121 e 163:165) comprova a existência de apenas um átomo de cloro neste fragmento, (C_2^2 , C_3^1).



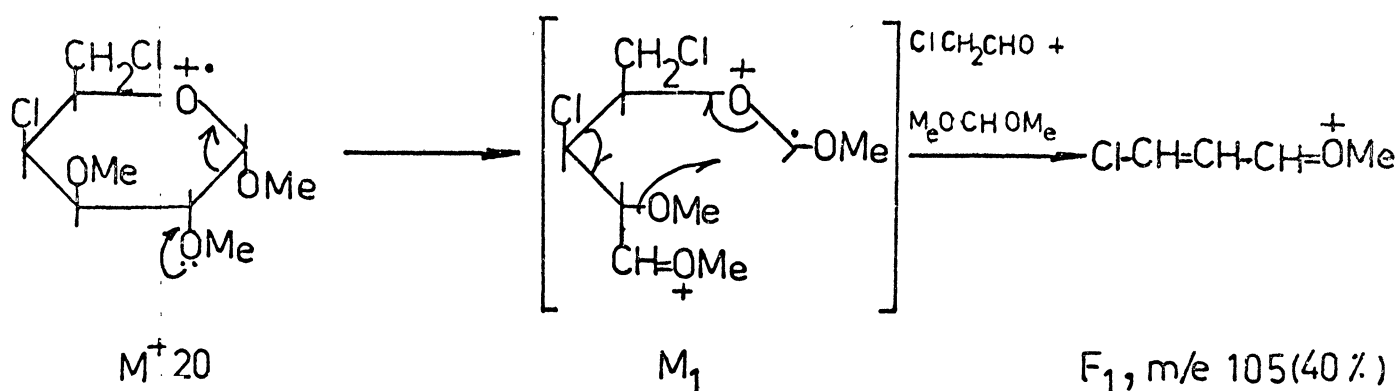
Série E

O mecanismo de fragmentação de M20 para a formação dos íons desta série é semelhante ao descrito por Kochetkov e Chizhov (22) para açúcares metilados não halogenados. A presença de um átomo de cloro nos fragmentos E_2 e E_3 , foi confirmada pela abundância isotópica.



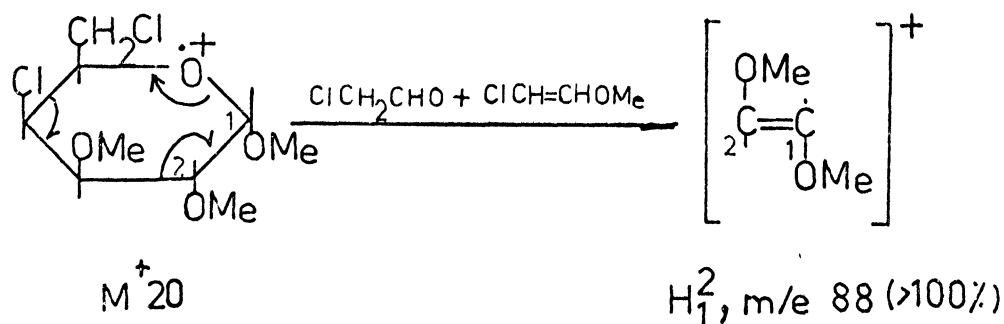
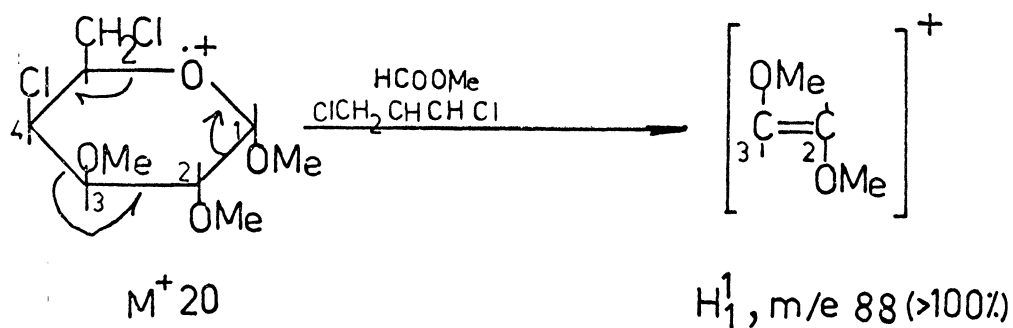
Série F

O mecanismo de formação dos íons desta série é semelhante ao descrito para o íon **M18**. O íon **M₁**, contendo um grupo metoxila no carbono C-3, apresenta uma tendência de deslocamento conjugado de elétrons e subsequente migração deste grupo para o carbono C-1, maior do que aquele apresentado pelo íon correspondente, originado de **M18**. Deste modo a substituição do grupo acetoxila por metoxila no carbono C-3 de **F₁**, torna-o mais estável.



Série H

A fragmentação de **M20**, nesta série, se dá por um mecanismo semelhante ao descrito para o íon **M18**. A substituição do grupo acetoxila por metoxila, nos carbonos C-2 e C-3 (íon **M18**), impede a formação do íon **H₂¹**, e isto explica a grande abundância do íon **H₁** (100%).

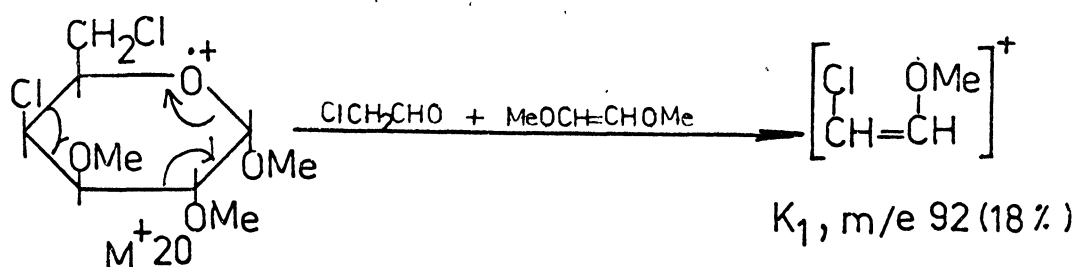


Série J

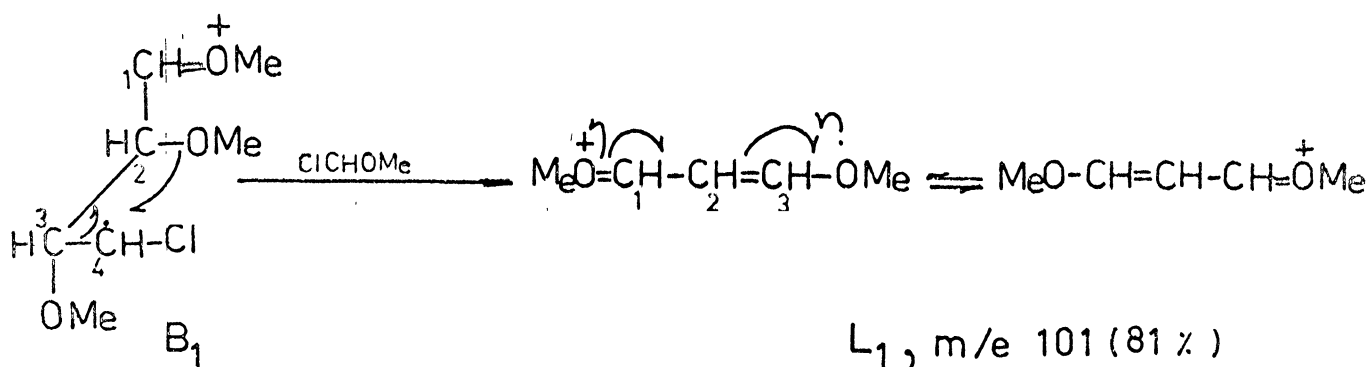
O mecanismo de formação dos íons J_1 e J_2 foi descrito para o íon M18. A abundância isotópica confirma a presença de um átomo de cloro em J_1 e ausência deste halogênio em J_2 .

Série K

A formação do íon K_1 se dá por um deslocamento conjugado de elétrons no íon M20, semelhante ao que ocorre na série H deste açúcar. Neste caso, a localização da carga se dá no fragmento constituido dos carbonos C-3 e C-4. O íon K_1 (m/e 92) apresenta apenas um átomo de cloro na sua estrutura (m/e 92 : 94 = 3:1).

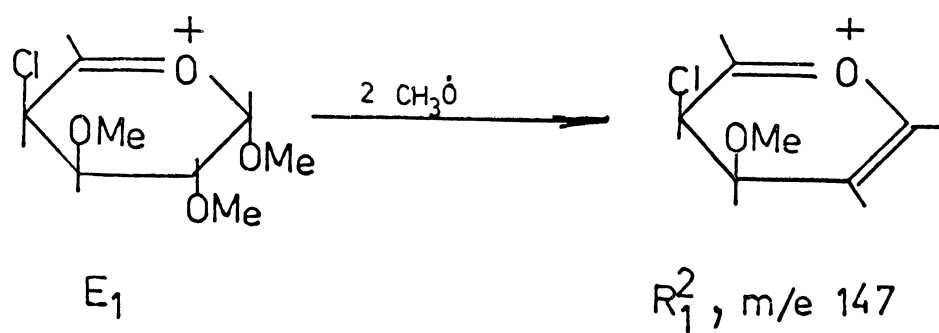
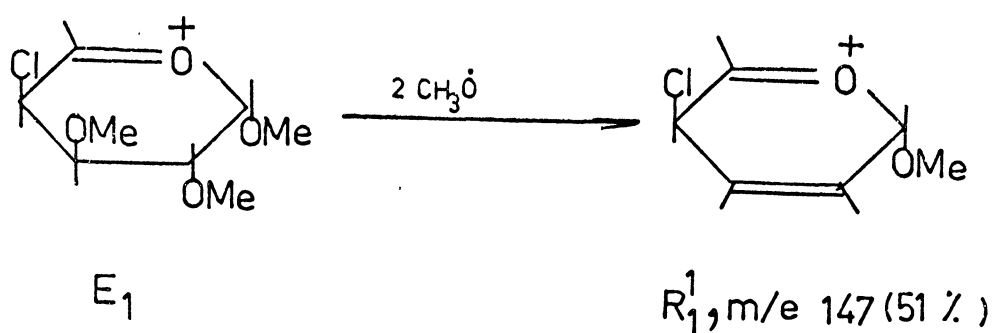
Série L

A migração do grupo metoxila do carbono C-2 do íon B_1 (ver série B), provoca a eliminação do radical $\dot{C}l-CH-OMe$ e a subsequente formação do íon L_1 . O sistema de ligações duplas conjugadas observadas em L_1 , possibilita a existência de duas formas de ressonância, dando muita estabilidade a este íon (abundância de 81 %).



série R

Esta série se inicia pela fragmentação do íon E_1 . A eliminação simultânea de dois grupos metoxila deste íon (instável) dá origem aos fragmentos R_1^1 e R_1^2 . A abundância do isótopo ^{37}Cl confirmou a presença de um átomo de cloro nestes íons.

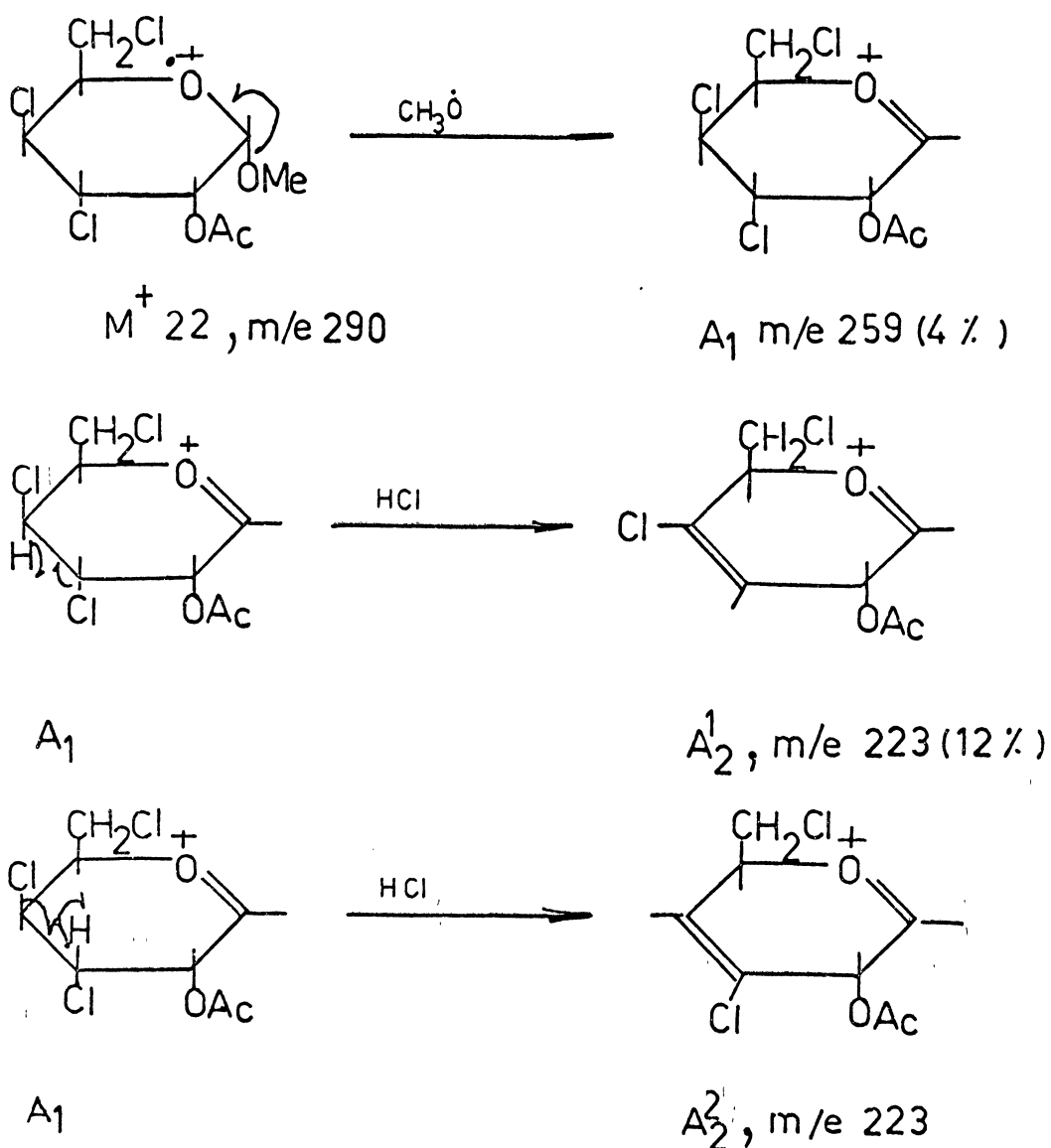


d. Mecanismo de fragmentação do metil 2-O-acetil-3,4,6-tricloro-3,4,6-trideoxi- α -D-gulopiranosídeo.

Na tabela IV se encontram os valores de m/e dos fragmentos obtidos do espectro de massa deste açúcar.

Série A

Esta série é caracterizada pela perda do grupo metoxila do carbono C-1 do íon M^{+}_{22} . A eliminação subsequente de um átomo de cloro, (na forma de HCl) de A_1 possibilita a formação de dois íons isoméricos cujas fórmulas mais prováveis são A_2^1 e A_2^2 . A abundância isotópica confirma a presença de dois átomos de cloro nestes íons.

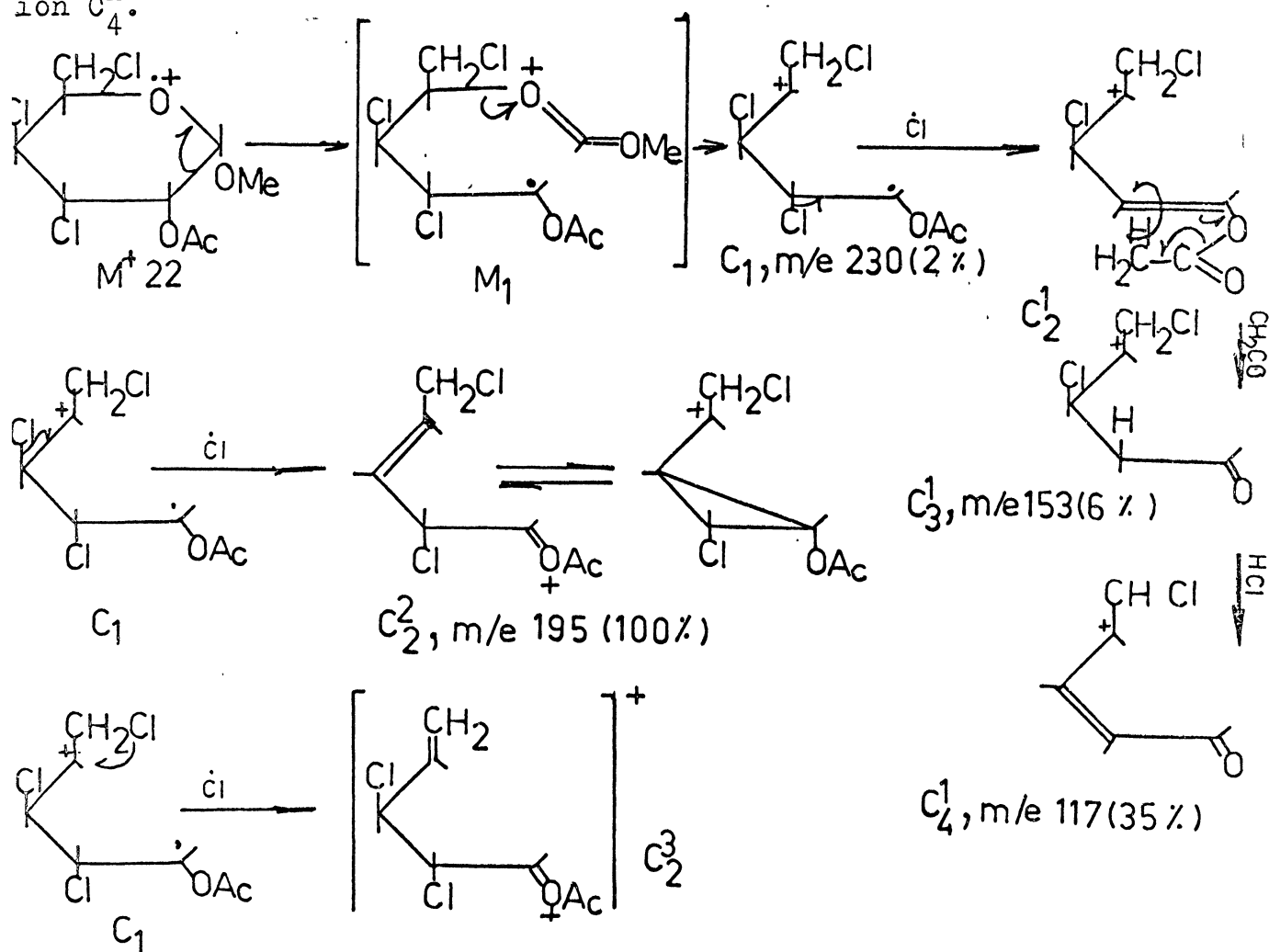


Série B

Os íons desta série (B_1 e B_2) são idênticos aos obtidos para a série correspondente de M20. A abundância relativa destes íons se encontram nas tabelas III e IV.

Série C

O mecanismo de formação dos íons desta série é semelhante ao descrito para a mesma série derivada de M20. A presença de três átomos de cloro no íon C_1 possibilita a formação dos íons isoméricos C_2^1 , C_2^2 e C_2^3 (pela eliminação de um átomo de cloro), os quais em conjunto formam o pico base do espectro. O grupo acetoxila no carbono C-2 (sp^2) do íon C_2^1 favorece um rearranjo tipo Mc Lafferty, com subsequente perda de ceteno e formação do íon C_3^1 . O grupo metileno deste íon favorece a eliminação de HCl com a subsequente formação do íon C_4 . A abundância isotópica confirma a presença de dois átomos de cloro nos íons do pico base e de apenas um átomo deste halogênio no íon C_4^1 .

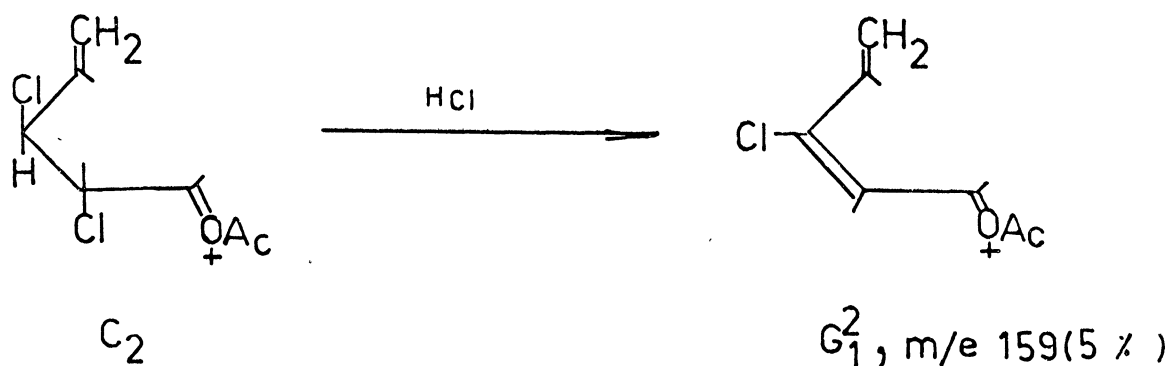
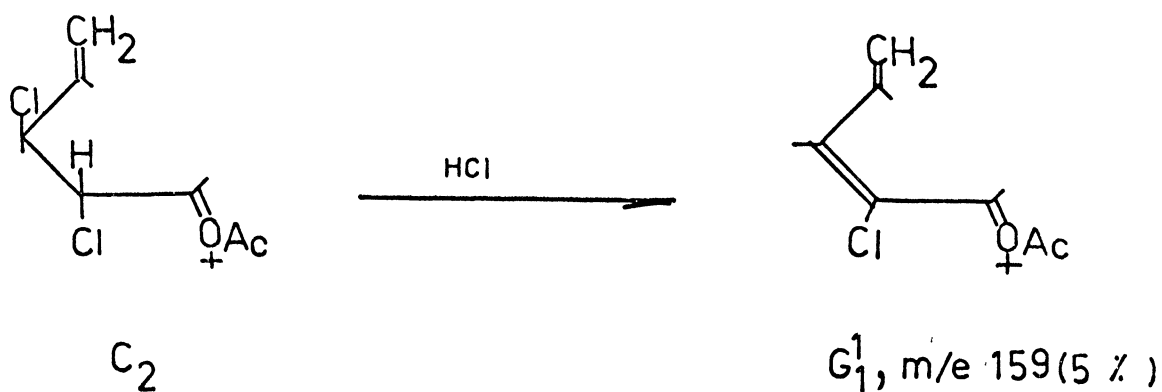


Série E

Nesta série forma-se apenas um íon estável (E_2) por um mecanismo semelhante ao descrito para mesma série originada de M20 (tabelas III e IV).

Série G

Esta série se inicia pela eliminação de HCl de C_2^3 (ver série C) dando os íons isoméricos G_1^1 e G_1^2 , pouco abundantes. A abundância isotópica confirma a perda de apenas um átomo de cloro nestes íons.



e. Mecanismo de fragmentação do metil 2,3-di-O-acetil-4-cloro-4-deoxi-
- β -L-arabinopiranosídeo.

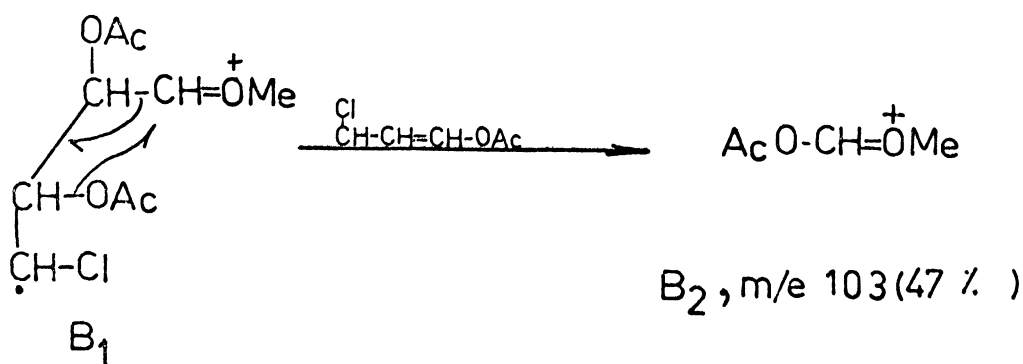
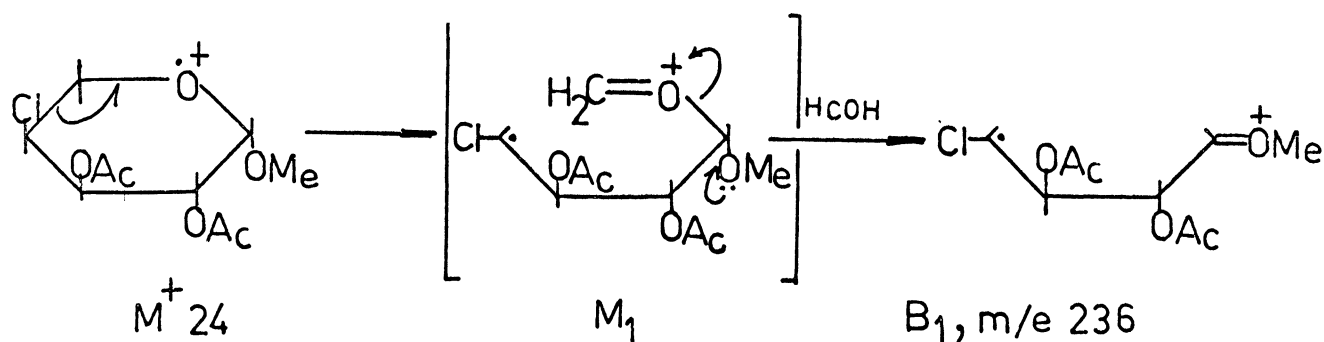
Na tabela V se encontram os valores de m/e dos fragmentos obtidos do espectro de massa deste açúcar.

Série A

O mecanismo de formação dos íons A_1 , A_2 e A_3 originados de M_{24}^+ , é semelhante ao descrito para a série A dos outros açúcares, e está representado na tabela V.

Série B

O íon B_1 (não detetado) se forma do íon M_1 , por um mecanismo semelhante ao descrito por Kochetkov e Chizhov (22) para o metil 2,3,4-tri-O-metil- β -L-arabinopiranosídeo. A formação do íon B_2 (abundância de 47%) a partir de B_1 só poderia ser explicada com a migração do grupo acetoxila do carbono C-2 para o C-1 e a subsequente cisão da ligação química entre estes carbonos.



Resultados do espectro de massa do metil 2,3-di-O-acetil-4-cloro-
-4-deoxi- β -L-arabinopiranosídeo, baseados no isótopo $^{35}\text{Cl}^a$.

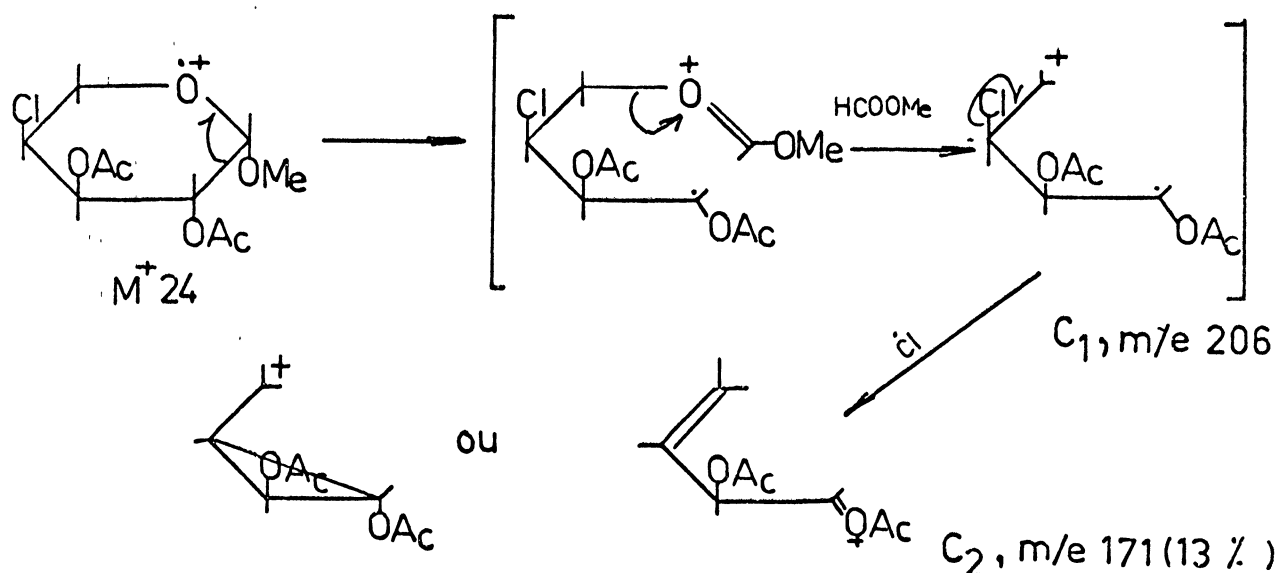
m/e	Fragmento	A	Abundância %
266	M^+	1	0
236	B_1	1	0
235	$\text{A}_1, \text{M}^+ - \text{CH}_3\dot{\text{O}}$	1	3
206	$\text{C}_1, \text{M}^+ - \text{HCOOMe}$	1	0
175	$\text{A}_2, \text{A}_1 - \text{CH}_3\text{COOH}$	1	15
171	$\text{C}_2, \text{C}_1 - \dot{\text{Cl}}$	0	13
170	$\text{G}_1, \text{C}_1 - \text{HCl}$	0	18
147	$\text{I}_1, \text{M}^+ - \text{CH}_3\text{COO}\dot{\text{O}}$	1	51
146	$\text{D}_1, \text{C}_1 - \text{CH}_3\text{COOH}$	1	54
144	$\text{H}_1, \text{M}^+ - (\text{ClCH}=\text{CH}_2, \text{HCOOMe})$	0	10
133	$\text{A}_3, \text{A}_2 - \text{CH}_2\text{CO}$	1	20
129	$\text{F}_1, \text{B}_1 - \text{AcO}\dot{\text{C}}\text{HCl}$	0	24
116	$\text{O}_1, \text{M}^+ - (\text{ClCH}=\text{CHOAc}, \text{CH}_2\text{O})$	0	4
111	$\text{I}_2, \text{I}_1 - \text{HCl}$	0	10
103	$\text{B}_2, \text{B}_1 - \text{ClCHCH}=\text{CHOAc}$	0	47
102	$\text{H}_2, \text{H}_1 - \text{CH}_2\text{CO}$	0	50
74	$\text{O}_2, \text{O}_1 - \text{CH}_2\text{CO}$	0	60
69	$\text{I}_3, \text{I}_2 - \text{CH}_2\text{CO}$	0	100
43	CH_3CO^+	0	>100

A) Número de átomos de cloro no fragmento, comprovado pela abundância isotópica.

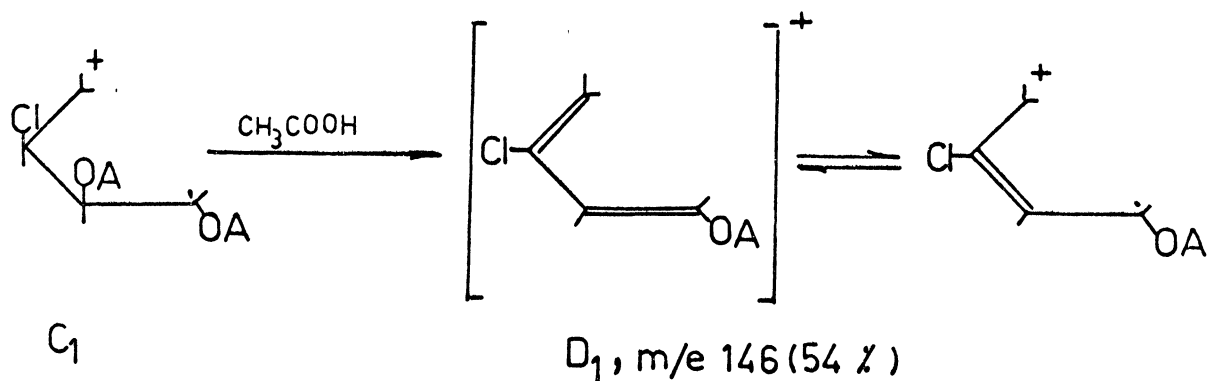
a) Foram omitidos os fragmentos isotópicos.

Série C

O mecanismo de formação dos íons desta série já foi descrito na série C de outros açúcares. Como o íon C_1 dá origem as séries D, G, J e I, sua formação é mostrada abaixo. Vale ressaltar que nesta série o íon C_2^1 (abundância de 13%) não contém cloro. Isto demonstra que o cloro desempenha um papel importante na estabilização do íon C_2 , como já foi demonstrado na fragmentação de M20.

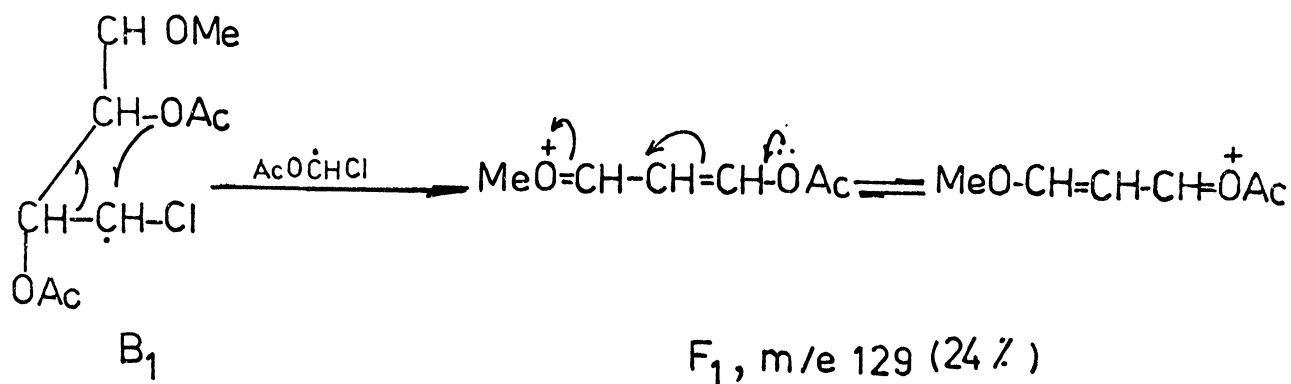
Série D

A formação do íon D_1 se faz por eliminação de ácido acético a partir do íon C_1 , como descrito para outros açúcares. Vale ressaltar que o íon D_1 permite duas formas de ressonância, o que explica a sua grande estabilidade (abundância de 54%).

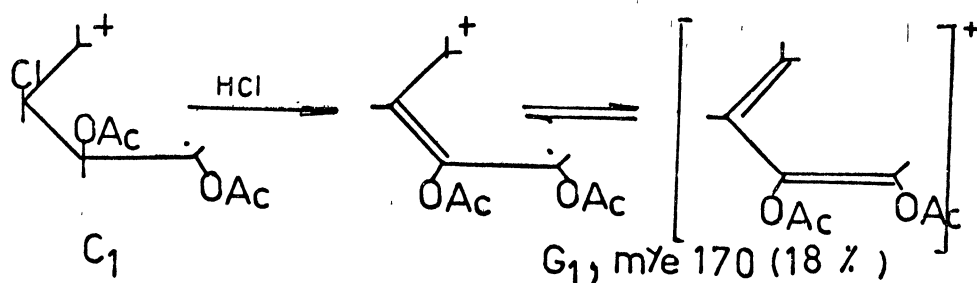


Série F

A formação dos íons B_2 e F_1 , derivados do íon M_{24} , só pode ser explicada pela existência do íon B_1 . De fato, a eliminação do radical $AcO\dot{C}HCl$ de B_1 , dá origem ao fragmento F_1 com carga localizada no grupo metoxila. (ver série B deste açúcar).

Série G

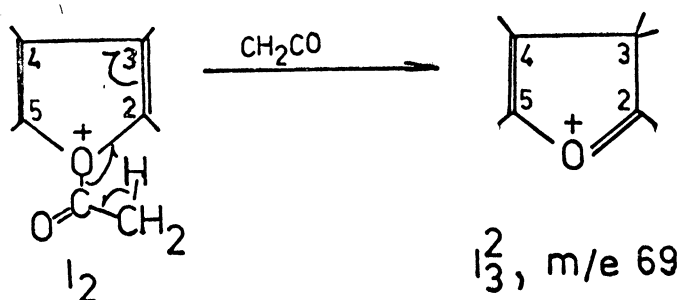
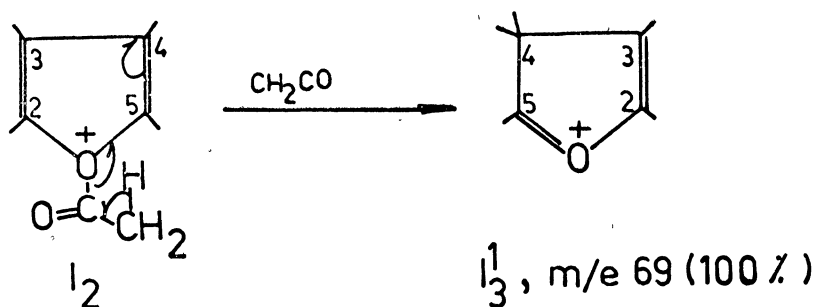
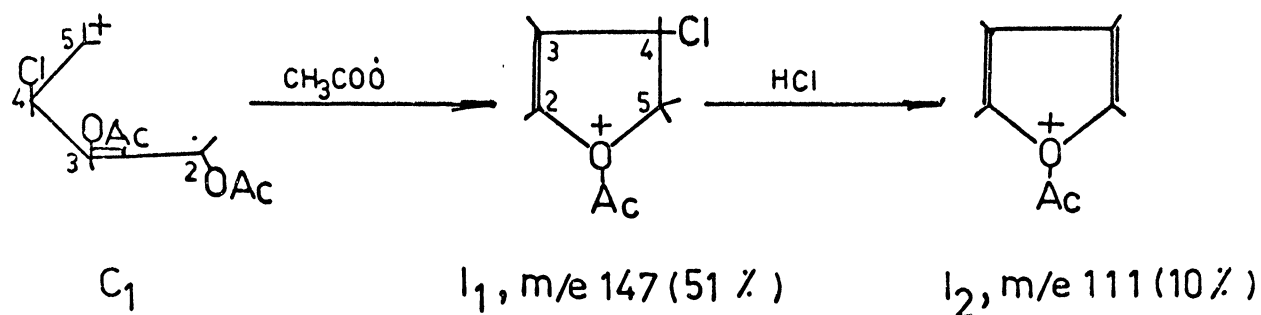
O íon G_1 (m/e 170) é semelhante ao íon C_2 (m/e 171) e sua formação a partir de C_1 envolve a eliminação de HCl.

Série H

Os íons desta série são semelhantes aos da série H originados de M_{16} e M_{18} , variando apenas a abundância dos fragmentos (tabelas I . II e V).

Série I

A existência do íon carbônium (carbono C-5) e de radical livre (carbono C-2) no íon C_1 , induz a um rearranjo com formação de um fragmento cíclico I_1 . A eliminação subsequente de HCl e de ceteno, conduz aos fragmentos I_2 e I_3 respectivamente. O fragmento I_3 , muito estável, é o pico base do espectro e a abundância isotópica mostra a inexistência de halogênios na sua estrutura.

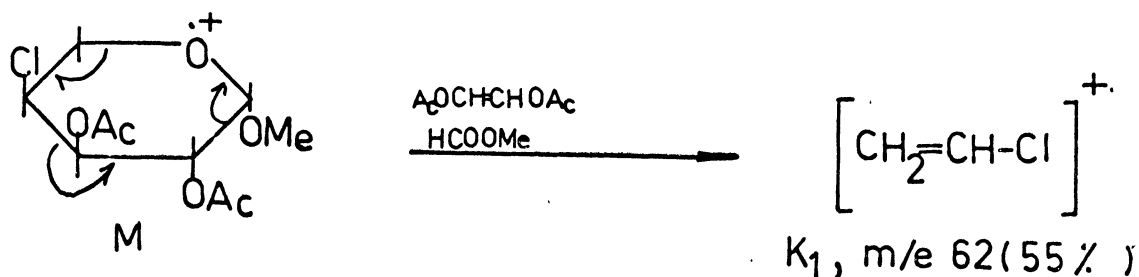


Série J

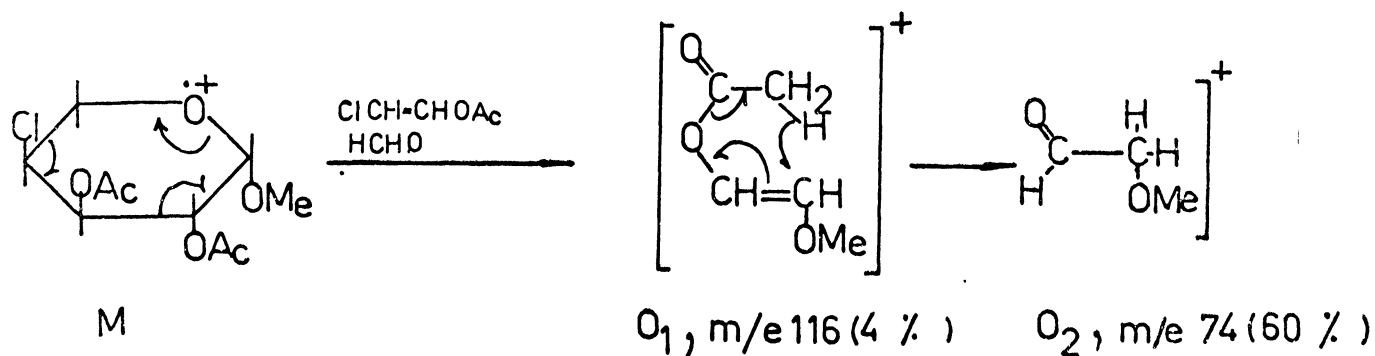
A formação dos íons desta série se dá por mecanismo semelhante ao descrito para a série J originada de M16 e M18 . (tabelas I e II).

Série K

Um deslocamento conjugado de elétrons no íon M24 , com cisão das ligações químicas entre os carbonos C-1 e C-2, C-3 e C-4, C-5 e oxigênio do anel, conduz a formação do íon K₁ o qual contém cloro na sua estrutura (confirmado pela abundância isotópica).

Série O

Os íons desta série não foram detectados nos açúcares estudados anteriormente. O íon O₁ é formado por um deslocamento conjugado de elétrons (diferente daquele observado na série K) que provoca o rompimento das ligações químicas entre os carbonos C-2 e C-3, C-4 e C-5 , C-1 e oxigênio do anel. A eliminação de ceteno do íon O₁ conduz a formação dos íons O₂ bastante estáveis (60 %).



CONCLUSÃO

A cisão, por impacto eletrônico das ligações químicas entre os carbonos de uma molécula de carboidrato, é induzida por átomos de cloro, numa intensidade maior do que a cisão da ligação carbono-cloro.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. José Hazencleve Duarte, pela orientação da presente tese de mestrado.

Ao Professor Olavo Romanus e colegas da disciplina de análise Orgânica do Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná, pelo estímulo, que tornou possível a realização deste curso de pós-graduação.

Ao Professor J. K. N. Jones (Departamento de Química da Universidade de Queen - Kingston - Canadá), pelas amostras dos açúcares halogenados e pelas sugestões dadas, as quais foram de importância relevante para a conclusão deste trabalho.

Ao Professor Lauro Travassos, do Instituto de Microbiologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, pela confecção dos espectros de $^1\text{H-NMR}$ -100 MHz.

À Coordenação dos Cursos de Pós-Graduação da Universidade Federal do Paraná, pela bolsa de estudos, concedida para a realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico CNPq, (Projeto Nº 7495/75 (SIP/O-106)) e ao convênio com o Banco Nacional do Desenvolvimento Econômico/Fundo Técnico e Científico, BNDE/FUNTEC , (Projeto Nº 158).

Aos professores e amigos do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Paraná, que direta ou indiretamente colaboraram na realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 . Barnett J. E. G., Advan. Carbohyd. Chem., 22 : 177-227, 1967
- 2 . Szarek W. A., Advan. Carbohyd. Chem., 28 : 225-305, 1974
- 3 . Coffey S., Rodd's Chemistry of carbon compounds, Elsevier, Amsterdam, 1967, 118-387.
- 4 . Horton D., Luetzov A., Theander O., Carbohyd. Res. 26 : 270, 1973. ; Carbohyd. Res., 27 : 268-272, 1973.
- 5 . Edwards R.G. et. al., Carbohyd. Res. 35 : 111-29, 1974
- 6 . Evans M. E., Long L., Parrish F.W., J. Org. Chem., 33 : 1074, 1968.
- 7 . Ali S. S., et. al., Carbohyd. Res., 5 : 118-125, 1967
- 8 . Tipson R. S., Advan. Carbohyd. Chem., 8 : 107-215, 1953
- 9 . Sinclair H. B., Carbohyd. Res., 15 : 147-153, 1970
10. Igarashi K., Honma T., Irisawa J., Carbohyd Res. 15 : 329-337, 1968
11. Ball D. H., Parrish F. W., Advan. Carbohyd. Chem., 23 : 233-280, 1968
12. Szarek W. A., Wolfrom M., Halogen Derivatives. In: Horton D., Pigman N. ed. The Carbohydrates, Academic Press Inc. N. York, 1972, vol. 1A , p 239
13. Ferrier R. J., Collins P. M., Monosaccharide Chemistry, Pinguin Books Ltd., London, William Clowes & Sons Ltd., 1972, p.144-166
14. Chizhov O. S. et al., Carbohyd. Res. 22 : 37-42, 1967
15. Finan P.A., Reed R. I., Snedden W., Chem. Ind. 1172, 1958
16. Bieman K., Mass Spectrometry, Mc Graw Hill, N. York, 1962, p.370
17. Budzikievics H., Djerassi C., Williams D. H., Interpretation of Mass Spectra of Organic compounds, Holden-Day Inc., San Francisco, 1965, p. 271

18. Mc Lafferty F. W., Interpretation of Mass Spectra, Benjamin Inc.
N. York, 1966
19. Beynon J. H., Mass Spectrometry and Its Application to Organic Chemistry, Elsevier Publication Co., Amsterdam, 1968. 640 p.
20. Roboz J. Mass Spectrometry, Interscience Publication Co. Inc.,
N. York, 1968, 539p.
21. Bjorndal H., Lindberg B., Svensson S., Carbohyd. Res., 5 : 433-
440, 1967
22. Kochetkov N. K., Chizhov O. S., Advan. Carbohyd. Chem., 21 : 39-
-93, 1966
23. Jongh D. C., Bieman K., J. Am. Chem. Soc., 85 : 2289-2294, 1963
24. Bieman K., Jongh D. C., Schnoes H. K., J. Am. Chem. Soc., 85 :
1763-1771, 1963.
25. Dubois M., et. al., Anal. Chem., 28 : 350-356, 1956 ; Nature, 168:
167, 1951
26. Hanessian S., Plissa N. R., J. Org. Chem., 34 : 2163 , 1969
27. Oldham J. W. H., Rutherford J. K., J. Amer. Chem. Soc., 54 :
366-378, 1932
28. Bjorndal H., et. al., Angew Chem. Internat. 9 , 1970
29. Kochetkov N. K., Chizhov O. S., Mass Spectrometry of Carbohydrates. Methods in Carbohydrate Chemistry, 6 : 540-554, 1965
30. Hanessian S., Mass Spectrometry in The Determination of Structure of certain Natural Products Containing Sugars. Methods of Biochemical analysis, Interscience, 1971. p. 105-134
31. Reed R. I., Reid W. K., Wilson J. M., Advan. Mass. Spectrometry,
Proc. Conf. 2nd., Oxford, 1961, vol. 2 . pp. 420-22, apud
Kochetkov N. K., Chixhov O. S., Advan. Carbohyd. Chem. 21:39-93,
1966

32. Helferich B., Klein W., Ber., 59 : 79, 1926

APÊNDICE I

Um espectrômetro de massa é um instrumento que produz um feixe de íons a partir da substância a ser analisada e separa estes íons num espectro de acordo com a relação entre massa e carga (m/e), registrando a abundância relativa de cada espécie iônica presente.

Apesar de se poder estudar tanto íons negativos como íons positivos, a maioria dos espectrômetros de massa são usados na investigação de íons positivos, pois estes são produzidos em número muito maior que os íons negativos.

Para a formação de um íon a partir de uma molécula neutra, é necessário uma quantidade mínima de energia, denominada potencial de ionização. O primeiro potencial de ionização de uma molécula é definido como a energia necessária para a remoção de um elétron de valência de uma partícula neutra, resultando na formação do íon molecular M^+ . O primeiro potencial de ionização da maioria das moléculas orgânicas, está situado entre 8 e 12 eV (15-19). Quando um excesso de energia, acima do primeiro potencial de ionização, é fornecido à molécula, ocorre a sua fragmentação.

Na fonte de íons de um espectrômetro de massa, a maioria dos íons gerados possuem carga unitária. Contudo, podem existir íons com carga dupla, devido a perda de dois elétrons, sem desintegração. Um íon com carga dupla se apresenta no espectro de massa com metade do valor de m/e .

Um espectro de massa apresenta o pico principal (íon molecular), um pico base (correspondente ao fragmento mais abundante) e outros fragmentos, cujas abundâncias (porcentagem) são relacionadas com o pico base.

O íon molecular é de grande importância no estudo estrutural porque fornece o peso molecular da substância. Os carboidratos são exceção, pois o íon M^+ é muito instável. Quando se obtém o peso molecular em espectrometria de massa de alta resolução, isto é, com precisão na quarta casa decimal (com auxílio de computador eletrônico), se obtém, na maioria dos casos, a identificação da espécie.

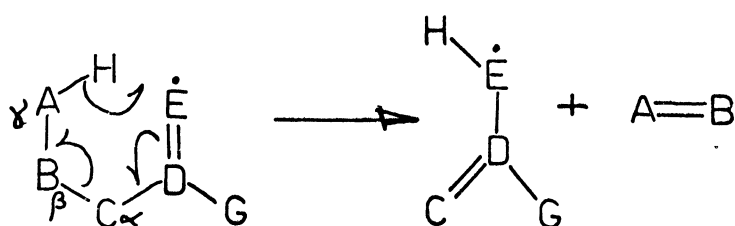
A estabilidade do íon molecular, e consequentemente sua abundância relativa no espectro, depende principalmente da sua estrutura. A presença de elétrons π , por exemplo, aumenta a estabilidade do íon M^+ , enquanto que certos grupos funcionais, tais como OH, tendem a enfraquecer as ligações químicas, formando fragmentos mais estáveis. Por isso compostos aromáticos e alicíclicos dão origem a íon molecular abundante, enquanto que álcoois, carboidratos, éteres, geralmente não produzem íons moleculares detectáveis.

A maioria dos elementos químicos possuem isótopos estáveis, e os espectrômetros de massa separam e detectam os íons isotópicos, em posições (m/e) e com abundâncias características. Por exemplo, os picos m/e 29 e 30 do espectro de N_2 , representam respectivamente os íons $(^{14}N\ ^{15}N)^+$ e $(^{15}N\ ^{15}N)^+$. Os picos em m/e 14 e 15, provém dos íons com dupla carga. O íon $(^{14}N\ ^{15}N)^{2+}$ aparece com massa fracionária de 14,5.

O número de átomos de um determinado elemento em uma molécula pode ser estimado empregando a expansão binomial $(a+b)^n$ onde a e b correspondem respectivamente às abundâncias naturais dos isótopos leve e pesado, e n é o número de átomos do elemento presente no íon molecular ou no fragmento. Para uma molécula de car

boidrato contendo dois átomos de cloro em sua estrutura, os fragmentos com dois cloros terão picos P (^{35}Cl , ^{35}Cl), $P+2$ (^{35}Cl , ^{37}Cl) e $P+4$ (^{37}Cl , ^{37}Cl). Para o cloro, $a = 3$ e $b = 1$, pois a abundância natural do cloro é aproximadamente 75% de ^{35}Cl e 25% de ^{37}Cl . Então $(a+b)^n = (3+1)^2 = 9 + 6 + 1$. Isto significa que a relação entre os picos P , $P+2$ e $P+4$ é respectivamente $9 : 6 : 1$.

Certos íons são formados através de rearranjos intramoleculares e os picos obtidos desta maneira são de difícil análise. O processo de rearranjo é um modo de se obter as espécies iônicas, e a probabilidade da ocorrência de um particular tipo de rearranjo é determinada não só pela estabilidade química dos íons, como também dos fragmentos neutros produzidos. Os processos de rearranjo geralmente envolvem estados de transição de estruturas de cinco membros, as quais são energeticamente favoráveis, pois há formação de nova ligação cada vez que houver um rompimento de outra. O tipo mais comum de rearranjo, denominado rearranjo de Mc Lafferty, envolve a migração de um hidrogênio intramolecular, para moléculas que contém heteroátomos, como mostra o esquema abaixo:



Os derivados de açúcares na forma de acetatos, sempre mostram este tipo de rearranjo. A maioria dos rearranjos são acompanhados da eliminação de uma molécula neutra estável. Para os derivados na forma de acetatos de metil glicosídeos, os fragmentos neutros estáveis são ceteno (CH_2CO , m/e 42), ácido acético (m/e 60), formiato de metila (HCOOCH_3 , m/e 60).

APÊNDICE II

As regras de nomenclatura para fragmentos iônicos obtidos por impacto eletrônico em espectrometria de massa, propostas por Kochetkov e Chizhov (22) serão adotadas no presente trabalho. Estes autores denominaram os fragmentos iônicos por letras maiúsculas (A, B, C, Y, Z, AA, BB, ZZ) e o algarismo colocado à direita e abaixo dessas letras indica o número de etapas necessárias à formação de um fragmento iônico a partir do íon molecular M. Por outro lado o algarismo colocado à direita e acima dessas letras indica o número de ordem do íon isomérico. Exemplificando, os três íons isoméricos representados por A_2^1 , A_2^2 , A_2^3 , foram obtidos por duas etapas de fragmentação do íon molecular.

Os íons da série A são provenientes da eliminação do grupo substituinte no carbono C-1 do íon molecular, dando o íon A_1 . Subseqüentes eliminações de substituintes em outras posições do íon A_1 , dão origem aos fragmentos $A_2, A_3, \dots, A_n$, sendo n o número de etapas de fragmentação.

Os íons da série B, pouco abundantes, são formados pela cisão da ligação química entre os carbonos C-4 e C-5 do íon molecular com posterior eliminação do fragmento constituído dos carbonos C-5 C-6 e do oxigênio anelar.

Os íons da série C são originados pelo rompimento da ligação entre os carbonos C-1 e C-2 do íon molecular, dando origem inicialmente ao radical iônico C_1 , muito instável, e dependendo de sua posterior fragmentação, dá origem aos íons das séries D, F, G, J, L.

Os íons das séries H e K são formados pelo deslocamento conjugado de elétrons no anel piranosídico do íon molecular, com elimi

nação de éster fórmico.

Os íons da série E são obtidos pela eliminação do carbono C-6 do íon molecular.

Aos outros íons não conceituados por Kochetkov e Chizhov (22) foram atribuídas as letras I,N,O,P.

Para indicar o deslocamento de eletrons no íon molecular e nos fragmentos iônicos, foi adotada a convenção proposta por Budzikiewics , Djerassi e Williams (17) na qual o deslocamento de um par de elétrons e de um só elétron, é representado respectivamente por uma seta ($\curvearrowright$) e por uma semi-seta ($\curvearrowleft$).