

TÉCNICA DE BOMBARDEAMENTO DE ÁTOMOS RÁPIDOS EM ESPECTROMETRIA DE MASSA NA ANÁLISE DE PESTICIDAS POLARES¹

Arquimedes Lavorenti^a, Harry R. Hudson^b e Max Pianka^c

^a*Departamento de Química da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" / USP - Av. Pádua Dias, 11
Caixa Postal 9 - CEP 13400 - Piracicaba - SP*

^b*Departamento de Química Aplicada e Ciências da Vida da Politécnica do Norte de Londres, Holloway Road, London, N7 8DB*

^c*63 Barn Hill, Wembley Park, Middlessex, London, HA9 9LL.*

Recebido em 16/08/89

ABSTRACT

Fast Atom Bombardment Mass Spectrometry has been applied to a range of ionic and thermally labile guanidine compounds and has been shown to be a potentially valuable aid to identification and characterisation. Results are presented for the positive ion spectra of some guanidine derivatives.

INTRODUÇÃO

Nas técnicas de ionização de moléculas, por elétrons ou química, em espectrometria de massa, a amostra a ser analisada deve entrar na fonte de íons na fase gasosa, o que quer dizer que a amostra, na maioria das vezes, deve ser aquecida antes. Isto tem causado um problema no caso de compostos de importância biológica ou biomédica onde a instabilidade térmica, não volatilidade, elevado peso molecular, e natureza geralmente polar, impedem a volatilização da amostra, com exceção de uns poucos exemplos de compostos de baixo peso molecular.

Embora já faz alguns anos que a espectrometria de massa analisa amostras não polares e voláteis, o primeiro grande avanço em direção à análise de compostos polares e não voláteis, tais como sais, ácidos, carboidratos, etc., foi devido à nova técnica de ionização desenvolvida por Barber e colaboradores em 1981 na Inglaterra¹, a qual foi denominada "Fast Atom Bombardment" (bombardeamento de átomos rápidos), também conhecida pela sigla FAB. Desde então, esta nova técnica tem se tornado uma ferramenta muito útil na caracterização estrutural de tais moléculas, onde os pesticidas orgânicos polares, possuidores dos grupos funcionais polares: -OH, -COOH e -NH₂, se enquadram.

A técnica de bombardeamento de átomos rápidos é relativamente simples. A amostra a ser analisada primeiramente é dissolvida em uma matriz de baixa volatilidade, por exemplo glicerol. Esta solução é então bombardeada por um feixe de átomos rápidos de Xenônio ou Argônio com energia ao redor de 8000 a 10000 eV, o que faz com que a amostra seja frequentemente des-absorvida como um íon, e este feixe de íons da amostra é então analisado no espectrômetro de massa pela técnica convencional. Tanto os íons positivos como os negativos são registrados com a mesma facilidade, com pesos moleculares sendo dados normalmente pela abundância dos íons MH⁺ no espectro de íons positivos, e pela abundância de íons (M-H⁺)⁻ no espectro de íons negativos².

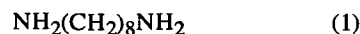
A correta interpretação deste espectro pode dar informações importantes a respeito do peso molecular e da estrutura química do material original.

MATERIAL E MÉTODOS

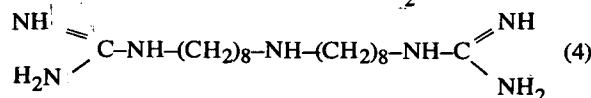
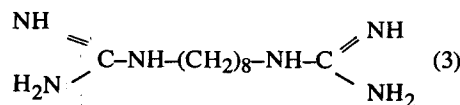
Todos os espectros de massa de íons positivos foram obtidos através do bombardeamento das amostras, dissolvidas em glicerol como matriz, com átomos rápidos de xenônio com energias ao redor de 8000 eV, em um espectrômetro de massa VG Analítico, modelo ZAB E. Estes resultados foram obtidos no Centro de Espectrometria de Massa do Conselho de Pesquisa em Ciência e Engenharia (SERC) da Universidade de Swansea, Grã-Bretanha.

O fungicida comercial guazatina ou panoctina, pertencente ao grupo das guanidinas, foi escolhido para este estudo e o mesmo vem a ser uma mistura de vários componentes de atividades biológicas semelhantes e de difícil separação.

Os componentes 1,8-diamino-octano (1) e bis-(8-amino-octil)amina (2) foram obtidos puros através da destilação de triamina técnica, a qual foi fornecida pela Companhia KenoGard AB de Estocolmo-Suécia, e contém em sua composição, em diferentes concentrações, diaminas e triaminas como as citadas acima, e também outras poliaminas. Fazendo-se reagir triamina técnica com cianamida, na presença de ácido acético, guizatina comercial é produzido, o qual também foi analisado e fornecido pela mesma Companhia.



O componente 1,8-diguanidino-octano (3) na forma de sulfato foi sintetizado de acordo com o método de Brown e colaboradores³, enquanto que bis-(8-guanidino-octil)amina (4) na forma de sulfato foi preparado através do método de Hudson e colaboradores⁴. Este mesmo componente (4) foi convertido para o seu carbonato e depois para acetato e algumas variações no seu preparo na forma de acetato também foram efetuadas de acordo com Lavorenti⁵.



¹ Parte da tese apresentada pelo primeiro autor à Politécnica do Norte de Londres para obtenção do título de Ph.D.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho, procurou-se apresentar apenas os íons positivos de interesse, na forma de tabela, ao contrário de outros autores que mostram através de gráficos com a abundância relativa versus massa/carga, m/z , para todos os íons ou fragmentos da estrutura.

Para uma melhor identificação dos componentes em estudo, apresentados na tabela, as seguinte siglas foram utilizadas:

G70 = Fungicida comercial guazatina 70%

NN = 1,8-Diamino-octano

NNN = Bis-(8-amino-octil)amina

GG = 1,8-Diguanidino-octano

GNG = Bis-(8-guanidino-octil)amina: GNG-S = Na forma de sulfato

GNG-C = na forma de carbonato

GNG-A = na forma de acetato

Um possível modelo de fragmentação do composto 1,8-diamino-octano (NN) está representado na figura 1, a qual mostra o esperado íon de m/z 145, $[M+H]^+$, como o pico ba-

TABELA 1 - Íons positivos do fungicida guazatina e de alguns de seus componentes, obtidos através da técnica de bombardeamento de átomos rápidos em espectrometria de massa.

m/z	Abundância Relativa (%)						
	G70	NN	NNN	GG	GNG-S	GNG-C	GNG-A
368	6,6	-	-	-	2,0	57,2	100,0
356	20,0	-	-	-	100,0	100,0	66,6
339	8,5	-	-	-	7,0	11,5	7,5
314	8,7	-	-	-	14,0	42,4	5,4
299	5,5	-	-	-	19,0	10,8	2,4
297	11,7	-	-	-	15,0	21,8	7,9
284	6,4	-	90,9	-	-	-	-
283	9,7	-	-	-	10,0	13,8	6,9
272	3,1	-	100,0	-	-	-	-
269	7,2	-	-	-	7,0	10,0	4,2
255	8,0	-	7,8	-	7,0	8,6	4,2
241	10,6	-	4,4	-	5,0	7,1	4,2
229	100,0	-	-	100,0	-	-	-
227	14,4	-	3,2	-	4,0	7,8	3,9
213	13,7	-	3,5	-	5,0	12,7	7,0
212	19,1	-	-	10,3	-	-	-
199	22,5	-	2,4	-	13,0	37,6	25,7
187	37,9	-	-	11,9	-	-	-
185	15,4	-	-	-	19,0	-	-
172	22,1	-	-	8,5	-	-	-
171	13,2	-	14,8	-	-	-	-
170	66,8	-	-	20,7	31,0	34,3	22,1
157	11,9	-	20,7	-	-	-	-
156	55,7	-	-	17,4	21,0	32,7	17,2
145	3,6	100,0	-	-	-	-	-
143	9,3	-	2,4	-	-	-	-
142	39,8	-	-	9,2	13,0	21,6	10,8
128	52,4	16,3	-	8,9	17,0	31,9	17,3
126	15,4	-	13,8	-	-	-	-
114	37,6	-	-	7,5	14,0	28,2	13,0
112	16,1	-	7,5	-	-	-	-
100	43,6	-	-	7,2	15,0	34,2	15,8
98	25,8	-	8,4	-	-	-	-
93	10,3	34,2	-	-	-	-	-
86	57,7	-	-	9,8	18,0	50,7	23,4
84	23,9	-	11,7	-	-	-	-
70	33,9	-	12,5	-	-	-	-
69	57,7	43,2	-	-	-	-	-
58	24,2	15,8	-	-	-	-	-
57	24,5	30,5	-	-	-	-	-
56	56,1	-	14,4	-	-	-	-
43	-	30,5	-	-	-	-	-
41	-	34,7	-	-	-	-	-
30	-	35,8	-	-	-	-	-

se. A fragmentação se inicia com o pico base perdendo amônia e produzindo um pico de m/z 128, $[\text{NH}_2(\text{CH}_2)_8]^+$. Pelo menos três rotas diferentes parecem ser possível a partir deste pico de m/z 128: (a) perda de $[\text{NH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3]$ com produção de um pico de m/z 69, $[\text{CH}_2=\text{CH}(\text{CH}_2)_3]^+$, o qual por perda subsequente de $[(\text{CH}_2)_2]$ através do rompimento de ligação do carbono-carbono produz um pico de m/z 41, $[\text{CH}_2=\text{CHCH}_2]^+$; (b) perda de $[\text{NH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH}=\text{CH}_2]$, a qual um pico de m/z 57, $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]^+$ é produzido; (c) perda de $[\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}=\text{CH}_2]$ e produção de um pico de m/z 43, $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2]^+$. A partir do pico base uma perda de $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2]$ também pode ocorrer com produção de um pico de m/z 58, $[\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3]^+$, o qual por perda subsequente de $[(\text{CH}_2)_2]$ através do rompimento de uma ligação carbono-carbono produz um pico de m/z 30, $[\text{NH}_2=\text{CH}_2]^+$. Também foi observado um pico de m/z 93, o qual foi devido à matriz glicerol.

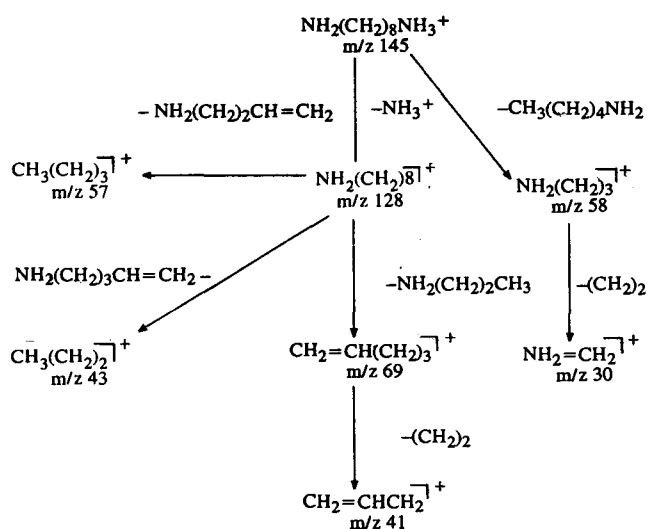


Figura 1. Fragmentação de 1,8-diamino-octano, com seus íons positivos, provenientes do bombardeamento de átomos rápidos em espectrometria de massa.

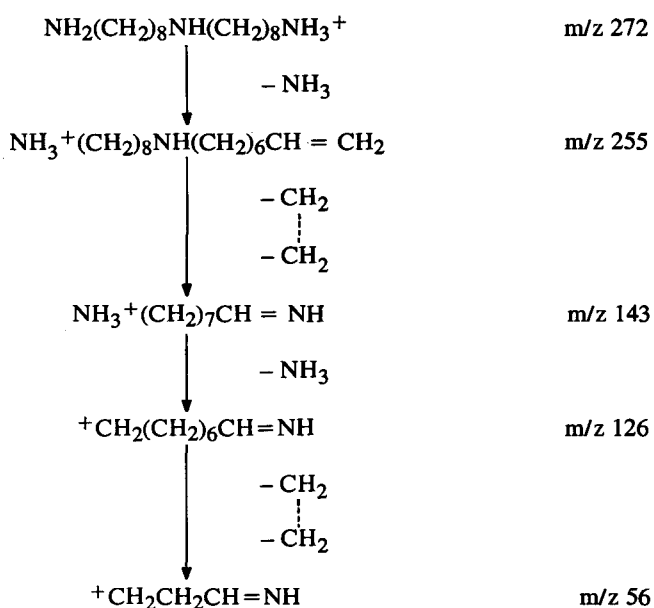


Figura 2. Fragmentação de bis-(8-amino-octil)amina, com seus íons positivos, provenientes do bombardeamento de átomos rápidos em espectrometria de massa.

A figura 2 mostra um possível modelo de fragmentação do composto bis-(8-amino-octil)amina (NNN), na qual se observa o esperado íon m/z 272, $[\text{M}+\text{H}]^+$, como pico base. A fragmentação se inicia com a perda de amônia do pico base (com possível deslocamento da carga para o nitrogênio da outra extremidade da molécula) produzindo um pico de m/z 255, $[\text{NH}_3^+(\text{CH}_2)_8\text{NH}(\text{CH}_2)_6\text{CH}=\text{CH}_2]$ o qual por perdas subsequentes de fragmentos de $[\text{CH}_2]$, através do rompimento de ligações carbono-carbono, produz uma série de íons importantes separados de 14 unidades de massa (iniciando em m/z 255 e descendo até m/z 143). A fragmentação continua novamente com perda de amônia produzindo um pico de m/z 126, $[\text{CH}_2(\text{CH}_2)_6\text{CH}=\text{NH}]^+$, o qual por perdas subsequentes de fragmentos de $[\text{CH}_2]$ através do rompimento de ligações carbono-carbono, produz uma série de íons importantes separados de 14 unidades de massa (iniciando em m/z 126 e descendo até m/z 56).

Também foi observado um pico forte de m/z 284, $[\text{MH}+12]^+$. Tais picos são bem conhecidos nos espectros de FAB de aminas em glicerol. Lehmann e colaboradores⁶ também tem relatado a existência de tais íons $[\text{MH}+12]^+$, no espectro de íons positivos em FAB de oligopeptídeos, os quais têm aumentado com o tempo de análise e acompanhado a abundância de íons $[\text{M}+\text{H}]^+$. O mesmo fenômeno tem sido observado por Pang e colaboradores⁷, os quais tem afirmado que isto pode ser devido à reação da molécula da amostra contendo amina com o formaldeído proveniente da matriz glicerol, como visualizado na figura 3 para o bis-(8-amino-octil)amina.

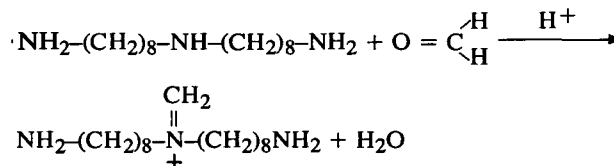


Figura 3. Esquema da reação entre formaldeído com o grupo amina secundária, da base livre do bis-(8-amino-octil)amina, na formação do íon imino.

Uma outra explicação possível da presença de um pico $[\text{MH}+12]^+$ no espectro de bis-(8-amino-octil)amina pode ser devido a uma condensação do grupo amina terminal da molécula com formaldeído, sem protonação, formando uma base de Schiff, como pode ser visto na figura 4.

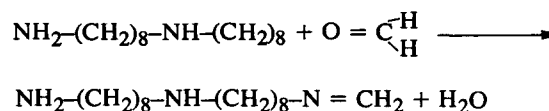
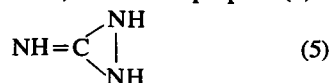


Figura 4. Esquema da reação entre formaldeído com um grupo amina do bis-(8-amino-octil)amina, na formação de uma base de Schiff.

A figura 5 mostra um possível modelo de fragmentação do composto 1,8-diguanidino-octano (CG), onde o pico base de m/z 229 aparece como uma base monoprotonada. A partir deste pico várias rotas diferentes de fragmentação podem ocorrer, envolvendo a perda inicial da amônia (a), cianamida (b), ou guanidina (d). Além disso um pico resultou da perda de CH_3N_3 (c), o qual tem sido observado também para outros derivados de guanidina^{8,9} e se supõe que seja devido a 3-imino-1,2-diazaciclopropano (5)



Outros picos importantes, separados de 14 unidades de massa, originando do rompimento de ligações carbono-carbono na cadeia octametileno são indicados esquematicamente na figura 5, os quais se iniciam em m/z 156 e descem até m/z 86.

Um possível modelo de fragmentação para o composto bis-(8-guanidino-octil)amina na forma de sulfato, carbonato e acetato está representado esquematicamente na figura 6, a qual apresenta o pico base de m/z 356, correspondente à base monoprotonada. O composto na forma de seus sais não foi representado na figura porque o modelo de fragmentação não depende da espécie aniônica presente, isto é, com qualquer dos

sais que utilizemos o pico base será o mesmo.

Várias rotas diferentes de fragmentação podem ocorrer a partir do pico base, envolvendo inicialmente a perda de amônia (a), cianamida (b), ou guanidina (d), para produzir os íons de m/z 339, 314, e 297, respectivamente, como se apresenta na figura 6. Além disso um pico m/z 299 resulta da perda de CH_3N_3 , como observado anteriormente e também para outros derivados de guanidina^{8,9}. Outros picos originaram através do rompimento das várias ligações carbono-carbono e carbono-nitrogênio ao longo da cadeia octametileno (com transferência de hidrogênio) para resultar em uma série de íons importantes como observado na tabela 1 e figura 6.

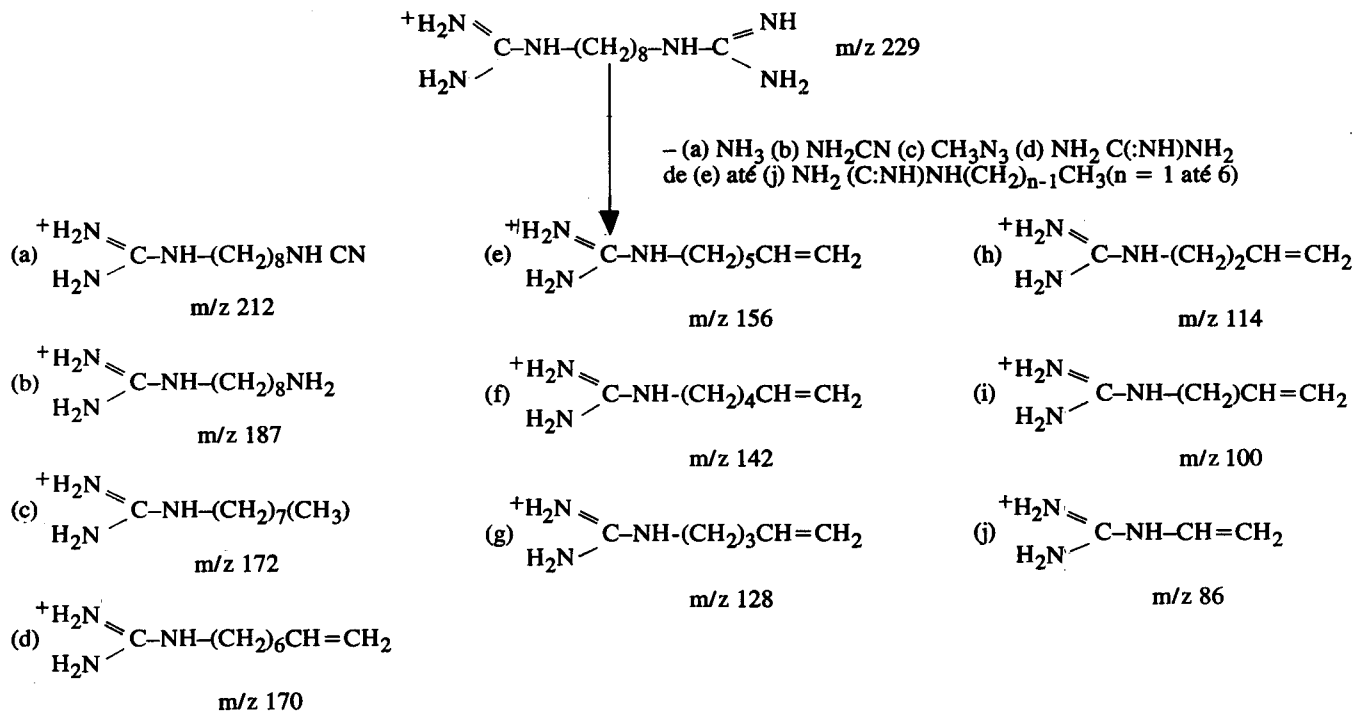


Figura 5. Fragmentação de 1,8-diguanidino-octano, com seus íons positivos, provenientes do bombardeamento de átomos rápidos em espectrometria de massa.

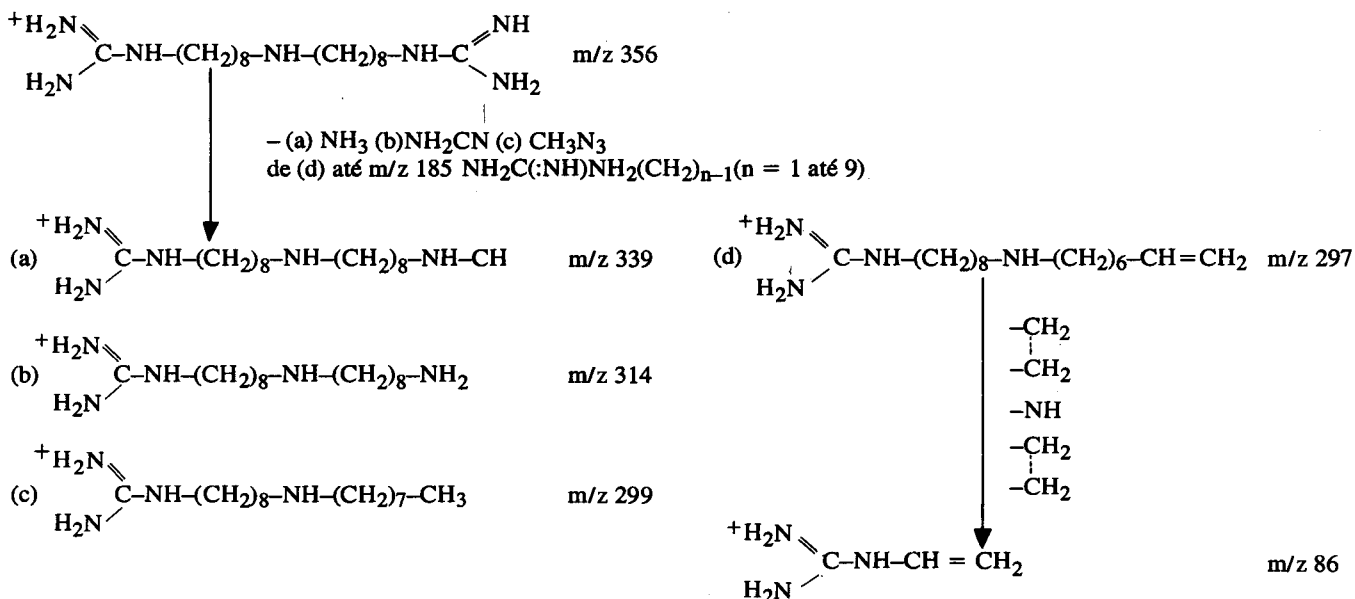


Figura 6. Fragmentação de bis-(8-guanidino-octil)amina, com seus íons positivos, provenientes do bombardeamento de átomos rápidos em espectrometria de massa.

Neste espectro também foi observado a presença de um pico adicional $[MH+12]^+$, correspondendo a m/z 368. A formação de um íon imino através da reação entre formaldeído-

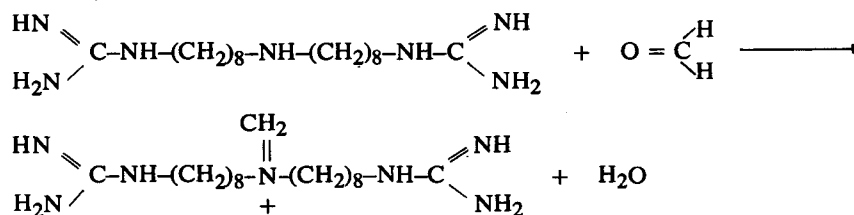


Figura 7. Esquema da reação entre formaldeído com o grupo amina secundária, da base livre do bis-(8-guanidino-octil)amina, na formação de um íon imino.

O pensamento inicial a respeito deste pico m/z 368, era de que ele tinha se originado da acetilação do grupo guanidino da molécula com perda subsequente de $[\text{CH}_2\text{O}]$. Pensando assim, diferentes procedimentos de preparo do bis-(8-guanidino-octil)amina foram efetuados de acordo com Lavorenti⁵, no sentido de se eliminar ou descobrir a verdadeira identidade deste estranho pico. Porém, qualquer que tenha sido o método de preparação, este pico foi observado em todos os espectros. Quando as amostras foram novamente analisadas com uma matriz diferente, álcool 3-nitrobenzílico, o pico m/z 368 não estava presente. Quando formaldeído foi adicionado à matriz, houve uma elevada regeneração do pico m/z 368, o que parece confirmar o que havia sido obtido anteriormente.

Na tabela 1 foram observados vários picos comuns aos diferentes componentes. Isto mostra que existe uma certa similaridade entre os modelos de fragmentação dos componentes de um mesmo grupo químico. Porém em nenhum deles ocorreu que todos os seus picos do espectro foram iguais aos de um outro componente. Isto facilita, portanto, a identificação, uma vez que o modelo de fragmentação de um componente qualquer vem a ser uma impressão digital estrutural.

Outros picos provenientes do fungicida guazatina (G70) também foram observados, porém, não foram colocados propositalmente na Tabela 1, uma vez que os resultados de outros componentes não estavam disponíveis no momento para servir de comparação.

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos as seguintes conclusões podem ser feitas:

- 1 - Esta técnica relativamente nova de Bombardeamento

de e a base livre da molécula parece ser a explicação mais plausível do aparecimento deste pico, cuja reação se apresenta na figura 7.

de átomos rápidos em Espectrometria de massa tem se apresentado como uma ferramenta muito útil na identificação de compostos polares e não voláteis de guanidinas.

2 - Os pesos moleculares foram confirmados por íons intensos $[\text{MH}]^+$ no espectro de íons positivos, com a carga positiva permanecendo no fragmento que contém o nitrogênio, durante o processo de fragmentação.

3 - Íons $[\text{MH}+12]^+$ de várias intensidades também podem ser originados através da reação do grupo amina da amostra com formaldeído derivado da matriz glicerol.

REFERÊNCIAS

1. Barber, M.; Bordoli, R.S.; Elliott, G.J.; Sedgwick, R.D.; Tyler, A.N.; *Analytical Chemistry* (1982) 54, 645A.
2. Williams, D.H.; Fleming, I.; *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry*, Fourth Edition, McGraw-Hill Book Company Limited. London (1987).
3. Brown, J.G.; Payne, H.; A.S. (Murphy Chemical Co. Ltd.) *Ger. Offen.* 2,219,461 (Cl. C 07C, A 01n), 02 Nov. 1972, *Brit. Appl.* 10,567/71, 21 Apr. 1971; 21 pp.
4. Hudson, H.R.; Pianka, M.; Powroznik, L.; Lynch, V.P.; *J. Labelled Compd. Radiopharm.* (1980) 17, 283; C.A. 93, 204033t (1980).
5. Lavorenti, A. *The Analytical Chemistry of Agricultural Guanidine Fungicides*. Tese Ph.D., Londres (1988), 193 p.
6. Lehman, W.D.; Kessler, M.; Konig, W.A.; *Biomedical Mass Spectrometry* (1984) 11, 217.
7. Pang, H.; Costello, C.E.; Biemaa, K.; *Proceedings of the 32nd Annual Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*, San Antonio, TX; American Society for Mass Spectrometry, East Lansing, MI, 1984; pp751-752.
8. Hudson, H.R.; Lavorenti, A.; Pianka, M.; *Chemistry and Industry* (1988) Mar., 161.
9. Cameron, D.G.; Hudson, H.R.; Ojo, I.A.O.; Pianka, M.; *Phosphorus Sulphur*, in the press.