

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE DITERPENOS: FRAGMENTAÇÕES CARACTERÍSTICAS DE ISOPIMARANOS OXIGENADOS EM C₇

Maria Lucia Patitucci

Departamento de Química – Universidade Federal do Paraná, Centro Politécnico, Jardim das Américas, CP 19081, CEP 81504, Curitiba – PR

Rosaly S. Silva, Lfgia M.M. Valente, Rosângela de A. Epifanio e Angelo C. Pinto

Instituto de Química – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro de Tecnologia, Bloco A, Cidade Universitária, Ilha do Fundão, CEP 21910, Rio de Janeiro – RJ – Brasil.

This paper describes the main fragmentation pattern of 7-oxygenated isopimaranes isolated from Brazilian Velloziaceae. Some interpretation of mass spectrometric fragmentation processes were deduced through the preparation of deuterio-derivatives.

INTRODUÇÃO

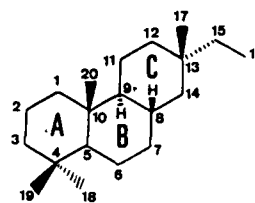
Djerassi et al., na década de sessenta, mostraram que a espectrometria de massas pode ter grande importância na determinação estrutural de moléculas orgânicas complexas¹. Algumas vezes em bases puramente empíricas, outras utilizando marcações isotópicas, estes autores propuseram rotas de fragmentações para uma vasta classe de substâncias naturais, entre as quais pode-se destacar a classe dos triterpenos^{2,3}.

Para moléculas sem qualquer funcionalização ou pouco funcionalizadas a espectrometria de massas acoplada à cromatografia a gás de alta resolução é, às vezes, o único método espectrométrico utilizado na proposição de novas estruturas⁴. Esta técnica, além de permitir a análise de substâncias em mistura, requer ínfimas quantidades de material. A introdução de novas técnicas como, por exemplo, espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas (Tandem Mass Spectrometry), vem ultimamente aumentando muito a potencialidade da espectrometria de massas^{5,6}. Apesar da importância desta técnica, são poucos os trabalhos publicados sobre análise de espectros de massas de diterpenos, sendo de destaque os de Enzel sobre diterpenos tricíclicos com anel C aromático⁷⁻⁹.

O levantamento sistemático da composição química de espécies de Velloziaceae brasileiras, que vem sendo realizado desde 1976, resultou no isolamento, caracterização e preparação de derivados de um grande número de diterpenos com esqueletos variados, principalmente isopimaranos e cleistananos. Uma análise das principais fragmentações em espectrometria de massas de cleistananos com anel C aromático, utilizando-se marcação isotópica, foi descrita anteriormente¹⁰. Neste trabalho propõem-se algumas rotas de fragmentação características de isopimaranos com oxigenação em C₇, com base em análise dos espectros de massas destas substâncias que vêm sendo obtidos no decorrer do Levantamento Fitoquímico de Velloziaceae.

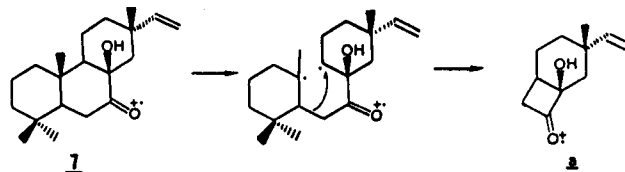
DISCUSSÃO E RESULTADOS

Todos os diterpenos com esqueleto isopimarano, até hoje isolados, de velloziáceas brasileiras apresentam a posição C₇ oxigenada.



ISOPIMARANO

A Tabela 1 relaciona os principais fragmentos de alguns dos diterpenos estudados. Através da análise do padrão de substituição destes diterpenos e da comparação dos fragmentos observados nos produtos naturais, semi-sintéticos e derivados deuterados, pode-se propor um padrão de fragmentação e a estrutura de alguns dos íons observados. Por exemplo, independente de substituições nos anéis A e/ou C, todos os isopimaranos com oxigenação em C₇ apresentam, sem exceção, o íon α , como resultado da perda do anel A exemplificada no Esquema 1 para o composto 7.



ESQUEMA 1

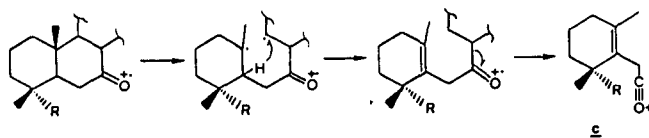
A formação do íon radical α envolve as quebras das ligações C₉-C₁₀ e C₅-C₆. Esta fragmentação é corroborada tanto através de 6,6-dideutero-7-ceto-8 β -hidroxi-15-isopimarano (7a), como também dos epímeros de mono e trideutero-7,8 β ,18-triidroxi-15-isopimarano (17a, 18a, 17b e 18b). Esta mesma rota de fragmentação é descrita na literatura para 7-ceto-esteróides¹¹. Este mecanismo de fragmentação ocorre também para os 7-ceto-8(9),15-isopimaradienos (1 e 2) como para os 7-ceto-8(14),15-isopimaradienos (4 e 5), sendo que o íon radical α é mais intenso nos $\Delta^{8(14)}$ isopimaradienos. Em

Tabela 1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
M ⁺	286(55)	330(22)	302(100)	286(35)	330(56)	284(30)	304(59)	320(2)	362(8)	334(11)	348(1)	302(22)	306(85)	348(6)	336(27)	350(39)	322(12)	322(2)
M ⁺ -15	271(23)	315(9)	287(9)	271(10)	315(28)	269(30)	289(8)	-	-	319(5)	-	287(2)	291(28)	333(12)	321(23)	-	307(5)	-
M ⁺ -18	-	-	284(10)	-	-	-	286(23)	302(3)	344(24)	316(18)	-	284(8)	288(66)	-	318(41)	332(41)	304(10)	304(6)
M ⁺ -31	-	-	271(27)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	303(12)	317(12)	-	291(4)
M ⁺ -33	-	-	269(29)	-	-	-	271(12)	-	-	301(10)	-	269(7)	273(18)	-	-	-	-	-
M ⁺ -49	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	273(14)	273(50)
M ⁺ -RH	-	255(11)	-	-	255(62)	-	-	-	-	273(47)	273(14)	-	-	-	275(9)	257(47)	-	-
M ⁺ -18-RH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	255(6)	-	-	-	257(19)	-	-	-
a	162(14)	162(12)	178(49)	162(27)	162(87)	160(100)	180(1)	180(5)	-	180(20)	-	178(100)	182(48)	-	182(27)	182(38)	182(36)	182(3)
b	-	-	160(40)	-	-	-	-	-	162(9)	-	-	-	164(21)	164(23)	164(24)	164(28)	164(30)	-
c	165(5)	209(2)	165(5)	165(6)	209(10)	165(1)	165(35)	-	-	-	-	165(12)	-	-	-	-	-	-
d	149(10)	149(7)	165(5)	149(28)	149(80)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
e	147(25)	147(14)	163(12)	147(13)	147(60)	147(7)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
f	-	-	-	-	-	-	167(35)	-	-	-	-	165(12)	-	-	-	-	-	-
g	-	-	-	-	-	-	165(35)	165(36)	165(43)	165(53)	165(15)	163(66)	-	-	-	-	-	-
h	-	-	-	-	-	-	138(56)	-	-	-	-	-	-	-	182(27)	-	-	-
i	-	-	-	-	-	-	138(56)	138(16)	-	138(51)	138(38)	-	-	-	138(12)	138(7)	138(3)	138(3)
j	123(26)	-	123(55)	123(45)	-	123(17)	123(100)	139(18)	-	-	-	123(14)	123(53)	123(69)	167(8)	-	-	-
k	-	-	-	-	-	-	123(100)	123(100)	123(88)	123(78)	123(100)	-	123(53)	123(69)	123(44)	123(96)	123(66)	123(50)

12, no qual há uma hidroxila em C₉ que favorece a quebra da ligação C₉-C₁₀, o íon radical *a* é o pico base do espectro. Estes resultados permitem que se reformule a proposta apresentada para a estrutura do fragmento *m/z* 162 de 3β-hidroxi-7-ceto-8(14),15-isopimaradieno para o íon radical *a*¹².

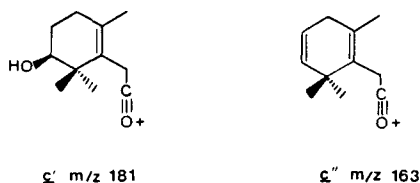
Os isopimarenos carbonilados em C₇ apresentam fragmentos envolvendo tanto o anel A como o anel C. Um dos fragmentos que envolvem o anel A, ao que tudo indica, forma-se através da quebra da ligação C₉-C₁₀, transferência de H[•] de C₅ para C₉ e quebra da ligação C₈-C₇ (Esquema 2).



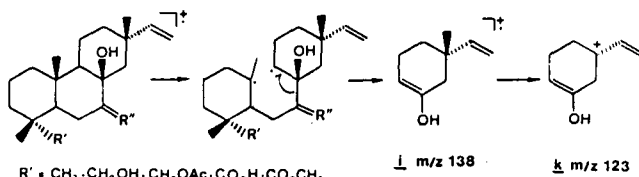
ESQUEMA 2

O mecanismo de formação de um dos fragmentos que envolvem o anel C é muito semelhante ao que resulta na formação do íon *c* que contém o anel A, diferindo apenas no rompimento da ligação C₆-C₇ em vez de C₈-C₉ e formando os íons *d* e *f*, dependendo das substituições presentes no anel C.

O espectro de massas de 6,6-dideutero-8β-hidroxi-15-isopimarano (*7a*) reforça a ocorrência destas duas rotas de fragmentação, que são também observadas para 3β-hidroxi-7-ceto-8(14),15-isopimaradieno (íons *c'* = *m/z* 181 e *c''* = *m/z* 163 e íon *d* = *m/z* 149)¹² e para *12* (íons *c* = *m/z* 165 e *g* = *m/z* 163).

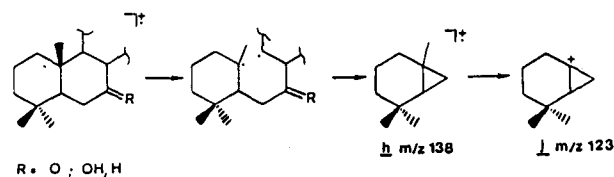


Os íons *d* e *f* são sempre acompanhados dos fragmentos com menos duas unidades de massa atômica (*e* e *g*). Os picos de *m/z* 138 e de *m/z* 123 mantêm entre si uma relação íon pai/íon filho, e estão presentes em todos os isopimarenos hidroxilados em C₈ (*7 a 18*), inclusive nos derivados deuterados (*7a*, *17a*, *17b*, *18a* e *18b*). Uma rota de fragmentação para a formação destes íons envolve as quebras das ligações C₉-C₁₀ e C₇-C₈ (Esquema 3).



ESQUEMA 3

Outra proposta para a origem dos picos de *m/z* 138 e 123 é apresentada no Esquema 4 e envolve o anel A.



ESQUEMA 4

Observa-se que as substâncias *1*, *3*, *4*, *6* e *12*, não hidroxiladas em C₈, apresentam picos correspondentes aos íons *h* e *j*, também observados em outros esqueletos com anel A não substituído.

Analisando o espectro de massas de *7a*, conclui-se que ocorrem as duas rotas de fragmentação para os hidroxilados em C₈ e os dados da Tabela 1 indicam que o íon *k* é geralmente bastante intenso para estas substâncias.

Nos isopimarenos carboxilados em C₈, observa-se que os íons moleculares (*M*⁺) perdem ácido fórmico ou formiato de metila após saída de Me[•]. Para o 7α-acetoxi-18-carboximeto-xi-8(14),15-isopimaradieno, cujos principais picos do espectro de massas foram relatados na literatura¹³, pode-se observar a perda de formiato de metila após a saída de 60 u.m.a. (AcOH) e de 15 u.m.a. (Me[•]).

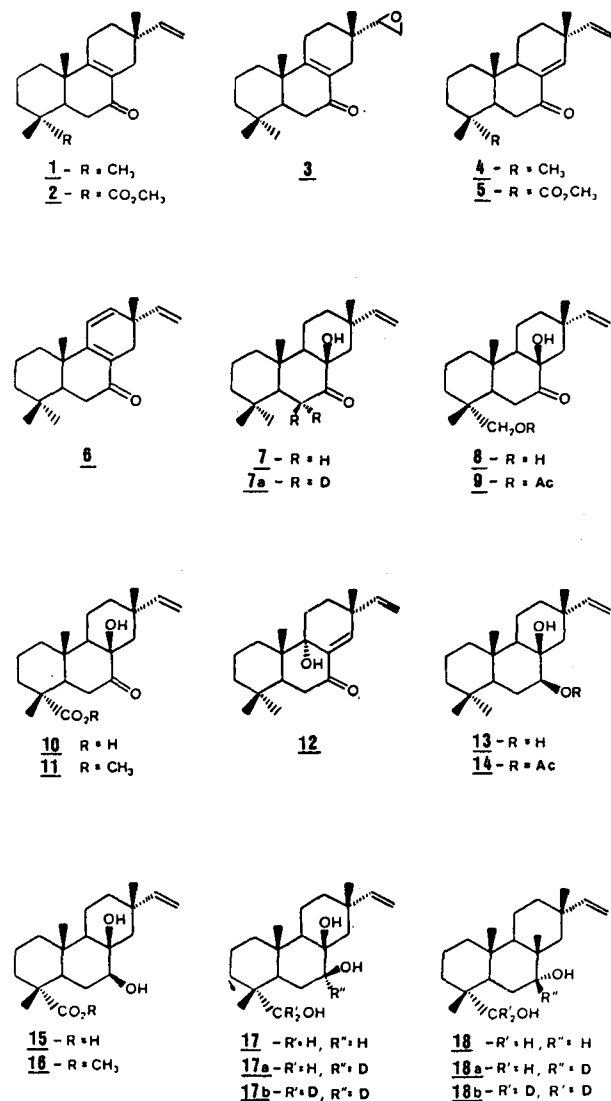


Fig. 1

CONCLUSÃO

As principais rotas de fragmentação dos isopimarenos e isopimaradienos oxigenados em C₇ envolvem inicialmente a quebra da ligação C₉-C₁₀, levando à formação de íons que caracterizam a posição e o grau de oxidação dos substituintes no esqueleto. O monitoramento destes íons através da técnica de fragmentografia de massas pode levar à indicação da presença de isopimaranos em extratos brutos ou pré-fracionados.

DADOS DE ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Os espectros de massas das substâncias analisadas foram obtidos em Espectrômetro de Massas VG Micromass NMRF (impacto de elétrons, 70 eV); Cromatógrafo a Gás acoplado a Espectrômetro de Massas HP-5985B (impacto de elétrons, 70eV) e Cromatógrafo a Gás acoplado a Espectrômetro de Massas HP-5987A (impacto de elétrons, 70eV).

7-ceto-8,15-isopimaradieno (1)¹⁴ M⁺·286(55), 271(23), 257(9), 245(100) 201(22), 189(23), 163(73), 147(25), 123(26), 121(32), 109(25), 105(26), 95(14), 91(38), 81(17), 79(24), 77(21), 69(32), 55(36), 43(18), 41(58).

7-ceto-18-carboximetoxi-8,15-isopimaradieno (2)¹⁵ M⁺·330(22), 315(9), 289(53), 255(100), 247(18), 229(65), 201(16), 189(25), 159(15), 145(15), 105(16), 91(21), 79(16), 55(12), 41(9).

7-ceto-15,16-epoxi-8,15-isopimaradieno (3)¹⁶ M⁺· 302(100), 287(9), 284(10), 271(27), 269(29), 259(13), 257(18), 245(31), 243(48), 227(11), 215(7), 199(13), 187(16), 178(49), 173(16), 161(30), 160(40), 157(52), 155(28), 133(30), 123(55), 121(29), 109(41), 105(50), 95(20), 91(49), 81(27), 79(28), 69(52), 55(63), 43(32), 41(79).

7-ceto-8(14),15-isopimaradieno (4)¹⁴ M⁺·286(35), 271(10), 258(5), 245(4), 201(3), 162(27), 149(29), 148(34), 133(35), 123(45), 109(14), 105(38), 95(9), 91(32), 81(18), 79(25), 77(22), 69(25), 55(30), 43(14), 41(57).

7-ceto-18-carboximetoxi-8(14),15-isopimaradieno (5)¹⁵ M⁺· 330(56), 315(28), 281(9), 271(25), 255(62), 237(22), 227(12), 207(75), 181(100), 162(87), 149(97), 133(81), 123(65), 105(81), 91(78), 79(56), 41(56).

7-ceto-8,11,15-isopimaratrieno (6)¹⁷ M⁺· 284(30), 269(30), 257(5), 199(6), 161(38), 160(100), 145(13), 131(19), 123(17), 109(8), 91(14), 69(19), 55(16), 43(11), 41(26).

*7-ceto-8β-hidroxi-15-isopimareno**(7)¹⁴ M⁺· 304(59), 289(8), 286(23), 276(5), 271(12), 261(14), 243(23), 236(15), 215(19), 191(16), 189(24), 180(1), 167(25), 165(35), 162(4), 149(15), 138(56), 123(100), 121(26), 109(61), 95(66), 81(62), 69(65), 55(68), 43(35), 41(56).

6,6-dideutero-7-ceto-8-hidroxi-15-isopimareno (7a)¹⁴ M⁺· 306(30), 288(4), 263(4), 245(3), 238(3), 215(2), 309(3), 193(3), 191(2), 189(4), 182(8), 167(100), 149(5), 141(20),

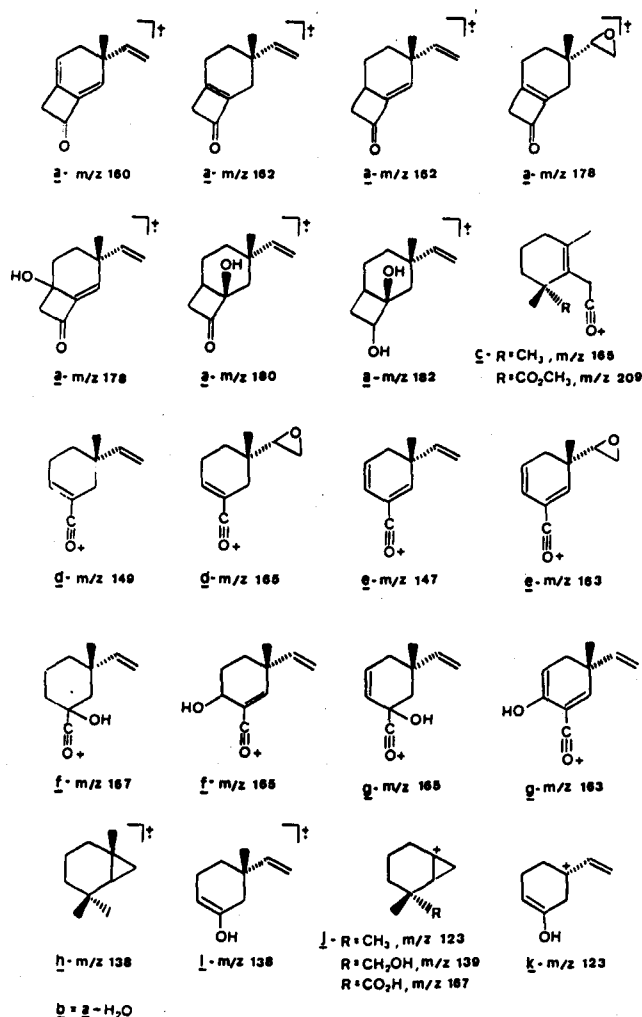


Fig. 2

125(15), 123(24), 109(13), 95(22), 81(20), 69(36), 55(28), 43(46), 41(40).

*7-ceto-8β,18-diidroxi-15-isopimareno**(8)¹⁸ M⁺·320(2), 302(3), 215(24), 189(16), 180(5), 167(12), 165(36), 149(20), 139(18), 138(16), 123(100), 121(30), 109(54), 95(50), 81(48), 69(48), 67(61).

7-ceto-8β-hidroxi-18-acetoxi-15-isopimareno (9)¹⁸ M⁺· 362(8), 344(24) 302(14), 284(26), 269(24), 241(25), 189(23), 165(43), 163(18), 162(9), 149(36), 136(40), 135(25), 133(29), 123(88), 121(64), 109(63), 108(20), 107(52), 105(32), 95(85), 93(49), 81(100), 69(43), 67(59), 55(76).

*7-ceto-8β-hidroxi-18-acetoxi-15-isopimareno** (10)¹⁹ M⁺· 334(11), 319(5), 316(18), 301(10), 291(21), 288(17), 274(22), 273(47), 259(20), 245(22), 227(20), 218(39), 205(30), 191(30), 189(30), 175(21), 165(53), 149(38), 138(51), 123(78), 121(60), 109(79), 107(65), 105(42), 95(80), 91(58), 81(68), 77(63), 69(87), 55(100).

7-ceto-8β-hidroxi-18-carboximetoxi-15-isopimareno (11)¹⁹ M⁺· 348(1), 319(9), 296(5), 289(10), 273(14), 255(6), 233(5), 232(8), 227(9), 213(9), 203(11), 183(25), 180(20), 167(15), 138(38), 123(100), 121(35), 95(46), 81(55).

7-ceto-9 α -hidroxi-8(14), 15-isopimaradieno*(12)²⁰
M⁺· 302(22), 287(2), 284(8), 269(5), 234(4), 179(58),
178(100), 163(67), 160(8), 149(28), 136(21), 135(26),
123(14), 121(20), 109(35), 91(14), 81(13), 67(16), 55(19),
41(23).

7 β ,8 β -didroxi-15-isopimareno*(13)¹⁷ M⁺· 306(85),
291(28), 288(66), 273(18), 255(13), 245(8), 235(83), 207(24),
182(48), 164(21), 149(17), 135(16), 123(53), 121(26),
109(51), 105(16), 95(47), 91(18), 81(58), 69(96), 55(65),
43(40), 41(100).

7 β -acetoxi-8 β -hidroxi-15-isopimareno (14)¹⁹ M⁺· 348(6),
333(12), 306(20), 288(40), 273(22), 270(38), 255(21),
245(16), 191(26), 189(23), 163(46), 149(25), 137(25),
135(23), 123(69), 121(34), 109(78), 105(20), 95(60), 91(20),
81(62), 69(90), 55(71), 43(100), 41(69).

7 β ,8 β -diidroxi-18-carboxi-15-isopimareno*(15)¹⁹
M⁺· 336(27), 321(23), 318(41), 303(12), 300(8), 289(7),
285(10), 275(9), 265(56), 257(19), 252(8), 249(9), 239(17),
236(25), 219(16), 203(14), 182(27), 175(18), 167(8), 164(24),
151(20), 147(22), 138(12), 135(21), 123(44), 121(36),
109(63), 107(42), 105(27), 95(44), 91(25), 81(66), 69(38),
67(42), 55(65), 43(100), 41(62).

7 β ,8 β -diidroxi-18-carboximetoxi-15-isopimareno(16)¹⁹
M⁺· 350(39), 332(41), 317(12), 299(9), 289(9), 279(56),
272(29), 263(7), 257(47), 255(21), 250(23), 239(18), 229(13),
217(11), 203(20), 191(17), 189(19), 182(38), 175(28),
164(28), 161(22), 151(29), 149(33), 147(31), 138(7), 135(31),
123(96), 121(56), 109(100), 107(62), 105(32), 101(30),
95(66), 91(35), 81(85), 69(58), 67(57), 55(96), 43(62), 41(85).

7 β ,8 β ,18-triidroxi-15-isopimareno*(17)¹⁷ M⁺· 322(12),
307(5), 305(2), 304(10), 273(14), 255(14), 251(40), 223(10),
205(8), 189(10), 182(36), 175(12), 173(11), 165(14), 164(30),
161(16), 159(14), 153(6), 151(18), 149(22), 147(32), 145(12),
137(12), 135(28), 133(22), 131(14), 123(66), 122(18),
121(48), 119(28), 109(92), 108(18), 107(54), 105(36), 97(28),
95(70), 93(60), 91(48), 81(100), 79(62), 69(46), 55(99),
41(66).

7-deutero-7 β ,8 β ,18-triidroxi-15-isopimareno(17a)¹⁵
M⁺· 323(10), 305(8), 274(10), 256(13), 251(10), 223(5),
200(5), 183(15), 148(12), 136(11), 123(36), 109(50), 95(45),
81(73), 69(67), 55(100), 43(76), 41(72).

7,18,18-trideutero-7 β ,8 β ,18-triidroxi-15-isopimareno(17b)¹⁵ M⁺· 325(2),
310(15), 307(24), 292(13), 274(47),
273(15), 256(44), 253(59), 225(25), 192(12), 183(41),
148(28), 136(22), 123(78), 109(100), 81(96), 67(70), 55(85),
43(52), 41(50).

7,8,18-triidroxi-15-isopimareno(18)¹⁹⁻²¹ M⁺· 322(2),
304(6), 291(4), 273(50), 255(30), 251(2), 223(1), 189(5),
182(3), 149(25), 133(30), 123(), 121(37), 109(92), 95(70),
81(96), 67(68), 55(100), 43(79), 41(75).

7-deutero-7 α 8 β ,18-triidroxi-15-isopimareno(18a)¹⁵
M⁺· 323(6), 305(10), 292(8), 290(5), 274(35), 274(35),
273(28), 256(38), 251(20), 223(5), 200(10), 174(10), 148(18),
136(21), 123(40), 109(72), 95(54), 81(86), 69(80), 55(100),
43(77), 41(74).

7,18,18-trideutero-7 α ,8 β ,18-triidroxi-15-isopimareno(18b)¹⁵ M⁺· 32325(9),
310(18), 307(24), 292(23), 291(15),
274(94), 273(65), 256(100), 253(5), 224(2), 214(7), 201(11),
192(11), 174(17), 136(35), 123(58), 109(99), 95(58), 81(80),
67(57), 55(70), 43(48), 41(48).

* Substâncias isoladas de Velosiáceas.

REFERÊNCIAS

1. Budzikiewicz, H.; Djerassi, C.; Williams, D.H.; "Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry, Vol. II: Steroids, Terpenoids, Sugars and Miscellaneous Classes", Holden-Day Inc, San Francisco, USA, 1964.
2. Budzikiewicz, H.; Wilson, J.M.; Djerassi, C.; *J. Amer. Chem. Soc.* (1963), **85**, 3688.
3. Ohashi, M.; Wilson, J.M.; Budzikiewicz, H.; Shamma, M.; Slusarchyk, W.A.; Djerassi, C.; *J. Amer. Chem. Soc.* (1963), **85**, 2807.
4. Azevedo, D.A.; Aquino Neto, F.R.; Simoneit, B.R.T.; *Organic Mass Spectrom.* (1990), **25**, 475.
5. McLafferty, F.W.; "Tandem Mass Spectrometry", John Wiley, New York, USA, 1983.
6. Grande, S.M.B.; "Aplicação da Técnica de Espectrometria de Massas Acoplada à Espectrometria de Massas (EM-EM) na Análise de Biomarcadores", Seminário apresentado no Instituto de Química - UFRJ, Rio de Janeiro, 1989.
7. Enzell, C.R.; *Tetrahedron Lett.* (1966), 2135.
8. Enzell, C.R.; Wahlberg, I.; *Acta Chem. Scand.* (1969), **23**, 871.
9. Enzell, C.R.; Wahlberg, I.; *Acta Chem. Scand.* (1970), **24**, 2499.
10. Patitucci, M.L.; Tese de Mestrado; Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais - UFRJ, Rio de Janeiro, 1983.
11. in ref. 1, p. 79.
12. Mahato, S.B.; Pal, B.C.; *Phytochemistry* (1986), **25**, 909.
13. Esquivel, B.; Martínez, N.S.; Cárdenas, J.; Ramamoorthy, T.P.; Rodríguez-Hahn, L.; *Planta Med.* (1989), **55**, 62.
14. Pinto, A.C.; Silva, A.J.R.; Mayer, L.M.U.; Braz F^o, R.; *Phytochemistry* (1979), **18**, 2036.
15. Epifanio, R.A.; resultados não publicados.
16. Pinto, A.C.; Silva, R.S.; Valente, L.M.M.; *Phytochemistry* (1988), **28**, 3909.
17. Pinto, A.C.; Borges, C.; *Phytochemistry* (1983), **22**, 2011.
18. Epifanio, R.A.; Tese de Mestrado; Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais - UFRJ, Rio de Janeiro, 1988.
19. Figueiredo, M.R.; Tese de Mestrado; Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais - UFRJ, Rio de Janeiro, 1985.
20. Pinto, A.C.; resultados não publicados.
21. Pinto, A.C.; Ribeiro, N.M.; Epifanio, R.A., in *Química Orgânica Sintética*; Comasseto, J.V. ed., São Paulo (1987), 90.