

ATRIBUIÇÃO ABSOLUTA E GERAL DE ISÔMEROS CONSTITUCIONAIS POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS: O CASO DAS METILPIPERIDINAS

Marcos N. Eberlin e Mario Benassi**

Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, 13085-970 Campinas – SP, Brasil

Recebido em 7/10/10; aceito em 20/5/11; publicado na web em 22/7/11

ABSOLUTE AND GENERAL ASSIGNMENT OF CONSTITUTIONAL ISOMERS BY MASS SPECTROMETRY: THE CASE OF METHYLPIPERIDINES. An absolute method is described via mass spectrometry (MS) for the structural assignment of isomers within the class of methylpiperidines. The method explores both the unimolecular and bimolecular gas phase behavior of structurally diagnostic fragment ions (SDFI). For the methylpiperidines, the isomeric 2-methyl, 3-methyl and 4-methyl 2-azabutadienyl cations are found to function as SDFI. These fragment ions are expected to be formed from all members within the class, to be stable and to retain the structural information of the precursor molecule, and to not interconvert into one another. To characterize these SDFI, both the collision induced dissociation (CID) in argon and bimolecular ion/molecule chemistry with ethyl vinyl ether were compared.

Keywords: mass spectrometry; diagnostic ions; methylpiperidines.

INTRODUÇÃO

A diferenciação de isômeros constitucionais, particularmente os que apresentam estruturas bastante similares, tais como as dos isômeros *cis-trans* ou *orto/meta/para*, tem representado um grande desafio químico e requerido o uso de diferentes técnicas analíticas. Isômeros são normalmente diferenciados por espectroscopia na região do infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear (RMN) ou espectrometria de massas (MS, *mass spectrometry*). A técnica de IV permite atribuir grupos funcionais presentes na amostra, mas frequentemente não é capaz de caracterizar um isômero de forma absoluta (não comparativa). Em IV, como em outras técnicas comparativas, é necessário obter o espectro para o padrão de cada isômero constitucional e assim estabelecer padrões para futuras comparações.¹ A técnica de RMN é muito eficaz na diferenciação de isômeros e a única capaz de realizar atribuições absolutas. A RMN usa, para estas atribuições, medidas de constantes de acoplamento e técnicas que identificam posicionamento bi e tridimensional de átomos ou grupo de átomos. A sensibilidade de RMN é, porém, um limitante especialmente em análise de misturas e quando acoplada a técnicas de separação.

Isômeros constitucionais podem apresentar diversas propriedades físico-químicas distintas, porém a massa molecular é a mesma. Como a MS se fundamenta principalmente na medida da massa (m/z) de moléculas isoladas na fase gasosa, tem apresentado em muitos casos fortes limitações quando a tarefa é distinguir isômeros. Para uma única nova molécula, para a qual espectros de massas de referência não estão disponíveis, a MS é incapaz de realizar atribuições absolutas de configuração.

Diferentes estratégias baseadas na correlação entre estrutura e propriedades físico-químicas têm procurado suprir esta deficiência inerente da MS. Destacam-se as estratégias que exploram a diferença de reatividade unimolecular²⁻⁴ ou bimolecular⁵⁻⁷ de formas ionizadas de um determinado conjunto de moléculas isômeras. Estas técnicas

não são, porém, absolutas pois é necessário comparar espectros de massas (MS) ou espectros de massas sequenciais (MS/MS) de referência.⁸⁻¹⁰ Para obter tais espectros, é necessário ter à disposição *a priori* todo o conjunto de isômeros, já com suas estruturas previamente atribuídas por outras técnicas, a fim de criar um conjunto de espectros de referência. No entanto, mesmo quando este conjunto de isômeros está disponível, os seus MS e MS/MS podem se mostrar muito semelhantes, frustrando a tentativa de nova diferenciação ou de atribuições futuras. A capacidade de atribuir a configuração ou de diferenciar todos os isômeros dentro de uma classe de forma abrangente e absoluta são, portanto, atributos dificilmente associados à MS. Para uma nova molécula com isomeria constitucional, a análise somente de seus espectros de MS ou MS/MS é, portanto, normalmente incapaz de permitir atribuições seguras de configuração.

Existem, porém, formas de se superar esta limitação e este trabalho descreve uma delas: uma nova metodologia em MS para a atribuição absoluta e geral de isomeria constitucional. Um novo conceito é empregado, o qual procura caracterizar o precursor isomérico através do comportamento, em fase gasosa, de um de seus fragmentos iônicos, que funcionaria assim como um fragmento iônico diagnóstico de estrutura (FIDE). Esta estratégia é baseada também na expectativa de que todas as moléculas, ou a maioria delas, dentro de uma série de compostos isômeros, irão formar o FIDE desejado, quando ionizadas por uma entre as diversas técnicas de ionização disponíveis em MS. A principal característica esperada dos FIDE é, portanto, a capacidade de reter a informação estrutural do seu precursor. Estes FIDE, assim se comportando, servirão como uma referência para a série de isômeros e, ao apresentarem uma dissociação e/ou química bimolecular característica, viabilizariam o estabelecimento de um método absoluto e abrangente para atribuição de isomeria constitucional por MS. A abrangência decorre do uso de fragmentos, os FIDE, que assim não se aplicam só para um conjunto específico de isômeros, mas para qualquer nova molécula homóloga ou análoga pertencente a esta classe de isômeros, desde que esta molécula alvo forme o FIDE selecionado para a classe.

Este método tem sido aplicado com sucesso para várias classes de isômeros constitucionais.¹¹⁻¹⁴ Por exemplo, Begala *et al.*¹⁵ diferenciaram isômeros *orto*, *meta* e *para* de 6-fenil-dibenzo(d,f)(1,3) dioxepinas substituídos com metila, metoxila e grupo nitro, através

*Endereço atual: Institut für Anorganische und Analytische Chemie, Justus-Liebig-Universität Gießen, Schubertstraße 60, Haus 16, D-35392, Gießen, Deutschland

*e-mail: benassineto@gmail.com

do comportamento distinto frente à dissociação induzida por colisão (CID, *collision-induced dissociation*) dos íons 2-fenilbenzo[*b*] furanos. Benassi e Eberlin¹⁶ diferenciaram também isômeros de acetonaftonas através da reatividade bimolecular em fase gasosa de FIDE apropriados (íons acílio) avaliada por MS pentaquadrupolar. Benassi *et al.*¹⁷ diferenciaram também isômeros de butilânilinas gerando FIDE da classe de íons fenil-imônio. Benassi e Eberlin¹⁸ utilizaram a reatividade distinta em reações íon/molécula entre os FIDE e etil vinil éter e seu comportamento distinto frente à CID para diferenciar também isômeros de carboxipiperidinas.

Íons azabutadienílicos são relativamente estáveis e mostram reatividade característica na fase gasosa,¹⁹ apresentando-se assim como candidatos em potencial para bons FIDE. Íons azabutadienílicos N-protonados são formados através da fragmentação induzida por ionização por elétrons (EI, *electron ionization*) a 70 eV de moléculas como as alil-aminas e piperidinas.²⁰ Dienos nitrogenados são precursores importantes em sínteses, sendo amplamente empregados em sínteses de heterociclos nitrogenados,²¹ principalmente através de reações de hetero-Diels-Alder²²⁻²⁴ e Diels-Alder intramolecular.²⁵ Por analogia, íons azabutadienílicos são assim fortes candidatos a reagirem com facilidade frente a cicloadições polares [4⁺ + 2].²⁶ Baseados nestes estudos e reatividades, descrevemos neste trabalho estudos que mostram que íons azabutadienílicos, formados por dissociação induzida por EI a 70 eV, podem ser utilizados como FIDE para a atribuição de configuração de metilpiperidinas.

PARTE EXPERIMENTAL

Todos os experimentos de MS² e MS³ foram realizados em um espectrômetro de massas pentaquadrupolar Extrel (Pittsburgh, PA, EUA), que é aqui representado pela simbologia, Q₁Q₂Q₃Q₄Q₅. O funcionamento deste equipamento é explicado em maiores detalhes por Juliano *et al.*²⁷ O equipamento é composto basicamente por um arranjo sequencial de três quadrupolos analisadores de massas (Q₁, Q₃ e Q₅), ou seja, capazes de discriminar íons com diferentes *m/z*, e dois quadrupolos (q₂ e q₄) que operam somente no modo de transmissão ampla de íons. Assim, q₂ e q₄ são os quadrupolos nos quais se realizam as reações íon/molécula e CID.²⁸ O pentaquadrupolo é munido de uma fonte de íons que opera com ionização por elétrons (EI). Os fragmentos iônicos diagnóstico de estrutura (FIDE) foram gerados por EI a 70 eV a partir dos precursores isômeros 1-metilpiperidina (97%) adquirido da Alfa Aesar (Pelham, NH, EUA), 2-metilpiperidina (98%) e 3-metilpiperidina (99%) adquiridos da Aldrich (Milwaukee, WI, EUA).

Os experimentos de CID (MS²) para os FIDE foram realizados usando argônio como gás de colisão. Os íons foram selecionados por Q₁ e direcionados até q₄, que se encontrava preenchido com argônio. A energia translacional do íon foi ajustada para 15 eV de forma a permitir máxima eficiência de dissociação. Os fragmentos iônicos foram detectados varrendo-se a faixa de *m/z* em Q₃, enquanto q₂ e Q₃ operavam no modo de transmissão total (modo *rf-only*). As reações íon/molécula foram realizadas através de experimentos MS². Neste experimento, q₂ é preenchido com moléculas neutras gasosas e a energia translacional do íon reagente é ajustada para próximo de 0 eV, ou seja, uma energia baixa o suficiente para induzir reações bimoleculares minimizando processos unimoleculares dissociativos, neste caso indesejados. Os produtos iônicos de reação gerados em q₂ foram então guiados até Q₃ para aquisição dos espectros de massas. O comportamento dissociativo dos produtos iônicos de reação foi avaliado por experimentos de MS³. Nestes experimentos, Q₃ foi utilizado para selecionar um produto iônico de interesse e o direcionar até q₄, onde este se dissociou em processo CID, enquanto Q₅ adquiriu o espectro MS/MS varrendo toda a faixa de *m/z* selecionada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As três metilpiperidinas (Figura 1), ao se dissociarem quando submetidas à EI a 70 eV, formam cátions metil azabutadienila gasosos de *m/z* 70.²⁹ (Note que a 4-metil piperidina não foi testada por estar impedida, estruturalmente, de formar cátions metil azabutadienílicos, devido à separação do grupo metila relativo ao N). Estes cátions metil azabutadienila gasosos são estáveis na atmosfera altamente diluída de espectrômetros de massas, estando também em um ambiente livre da ação de contraíons e solventes. Augusti *et al.*¹⁹ estudaram por MS pentaquadrupolar a reatividade de íons azabutadienílicos em fase gasosa e observaram a ocorrência favorável de reações de cicloadição polar [4⁺ + 2]. Meurer *et al.*²⁶ estudaram a reatividade de diferentes tipos de íons 2-azabutadienílicos frente a etil vinil éter, explorando também as reações de cicloadição polar [4⁺ + 2]. Estes estudos não avaliaram, porém, a possibilidade de diferenciar as moléculas precursoras isoméricas que geraram os íons azabutadienílicos.

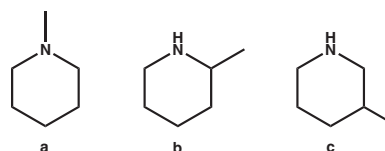


Figura 1. Estruturas dos isômeros (a) 1-metilpiperidina, (b) 2-metilpiperidina e (c) 3-metilpiperidina

Os MS (Figura 2) obtidos através de EI a 70 eV para as três metilpiperidinas isômeras a-c mostram caminhos dissociativos semelhantes. Para os três isômeros, o íon molecular de *m/z* 99 fragmenta-se por perda de H⁺ formando o íon fragmento de *m/z* 98, que é o íon base no MS da 1-metilpiperidina. Outro caminho dissociativo importante para os íons moleculares é a perda de CH₃ radicalar gerando íons fragmentos de *m/z* 84, processo este que forma o íon base para a 2-metilpiperidina. O íon base para a 3-metilpiperidina é o de *m/z* 56, que é constituído principalmente pelo cátion 2-azabutadienila.¹⁹

Os íons fragmento de *m/z* 70, nestes três espectros, são os de maior interesse neste estudo, pois devem corresponder a cátions isômeros metil 2-azabutadienílicos (Esquema 1). Estes íons, pela sua alta estabilidade e reatividade característica,^{19,20} podem então funcionar como FIDE para metil piperidinas.

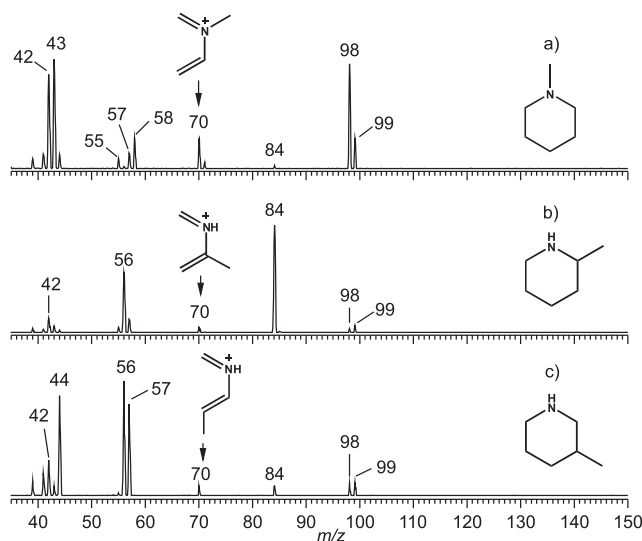
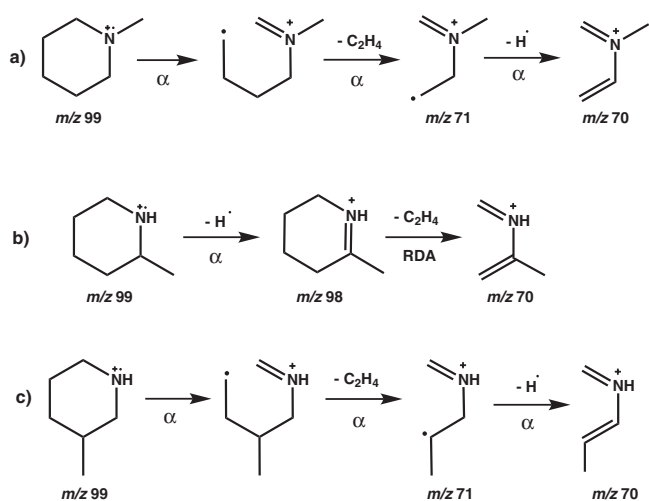


Figura 2. MS por EI a 70 eV dos isômeros (a) 1-metilpiperidina, (b) 2-metilpiperidina e (c) 3-metilpiperidina



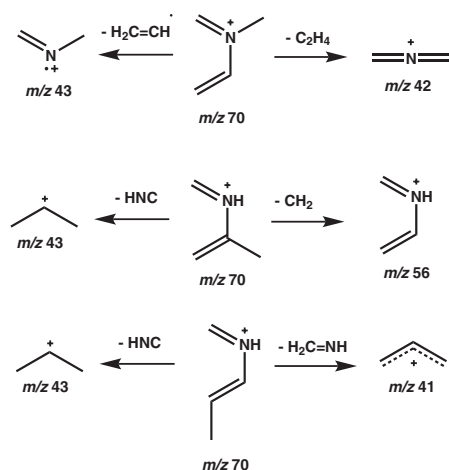
Esquema 1. Proposta de dissociação dos íons moleculares de m/z 99 da (a) 1-metilpiperidina, (b) 2-metilpiperidina e (c) 3-metilpiperidina, que formam os respectivos cátions metil 2-azabutadienílicos isômeros

Como o Esquema 1 mostra, para formar cátions 2-metil ou 4-metil azabutadienílicos, respectivamente, a 1-metilpiperidina (Esquema 1a) e a 3-metilpiperidina ionizadas perdem primeiro eteno (28 Da) gerando íons de m/z 71, que então perdem H radicalar. A 2-metilpiperidina ionizada (Esquema 1b) fragmenta-se primeiro por clivagem α perdendo H radicalar e gerando o íon de m/z 98. De acordo com McLafferty e Turecek,³⁰ este íon se fragmenta por Retro-Diels-Alder (RDA) eliminando eteno e formando assim o cátion 4-metil azabutadienila de m/z 70.

Dissociação induzida por colisão (CID)

Felizmente, ao serem submetidos à CID, os três possíveis FIDE de m/z 70 se fragmentam de forma distinta (Esquema 2). O cátion 2-metil-2-azabutadienila, formado a partir da 1-metilpiperidina (Figura 3a) perde preferencialmente uma molécula neutra de eteno (C_2H_4) formando um fragmento iônico intenso de m/z 42. Também é formado um íon fragmento de m/z 43 ($H_2C=N-CH_3^{+\bullet}$), correspondente à perda de um radical vinila.

O cátion 3-metil-2-azabutadienila, de m/z 70, formado agora a partir da 2-metilpiperidina (Figura 3b), mostra em seu MS/MS um comportamento por CID bastante característico. Este íon perde



Esquema 2. Proposta de dissociação por CID para os cátions (a) 2-metil-, (b) 3-metil- e (c) 4-metil-2-azabutadienílicos

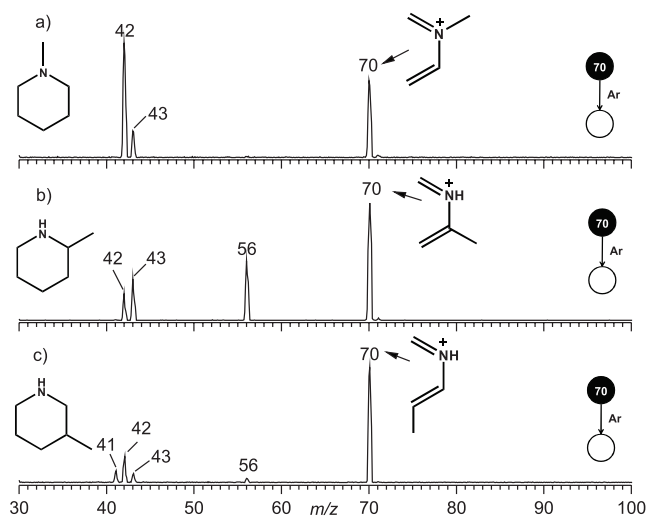


Figura 3. MS/MS por CID dos possíveis FIDE de m/z 70 formados a partir da (a) 1-metilpiperidina, (b) 2-metilpiperidina, e (c) 3-metilpiperidina

principalmente uma molécula neutra de metileno ($:CH_2$) formando assim o íon base de m/z 56, provavelmente o cátion 2-azabutadienila não substituído. Esta perda de $:CH_2$ (14 Da), uma espécie de alta energia, é surpreendente pois é muito rara,²⁹ mas se explica pela falta de caminhos dissociativos menos endotérmicos. Uma perda de HNC (27 Da) também ocorre gerando o segundo fragmento mais intenso de m/z 43, provavelmente o cátion isopropila.

O MS/MS do cátion 4-metil-2-azabutadienila, gerado a partir da 3-metilpiperidina, apresenta-se também bastante característico (Figura 3c). Este isômero é o mais resistente à dissociação por CID, e forma principalmente um “tripleto” de íons fragmento de m/z 41, 42 e 43, adjacentes e de baixa intensidade. O fragmento de m/z 43 é provavelmente o cátion isopropila, formado por perda de HNC, enquanto a formação do fragmento de m/z 41 se explica pela possibilidade que se abre, para este isômero em particular devido à posição 4 para a metila, de formar o cátion alila por perda de uma molécula neutra de $H_2C=NH_2$ (metanimina de 29 Da). Note também, para o isômero 4-metil (Figura 3c), um fragmento de m/z 56 proveniente da perda de $:CH_2$, mas que ocorre em extensão bem mais reduzida do que a observada para o isômero 3-metil (Figura 3b).

Os MS/MS com experimentos de CID permitem então a atribuição de configuração inequívoca para os FIDE de m/z 70, fornecendo informação sobre a conectividade de seus precursores, as metil piperidinas isômeras. Ou seja, pode-se determinar a posição relativa do substituinte metila no anel piperidina. Perceba ainda que a característica mais marcante deste método é que não se atribui configuração por análise comparativa entre isômeros dentro de um conjunto específico, mas se realiza a atribuição geral e absoluta de configuração de metil piperidinas com apenas a análise de um espectro de MS/MS de um íon fragmento do tipo FIDE.

Reação íon/molécula com etil vinil éter

A reatividade dos FIDE de m/z 70 foi também explorada através de reações íon/molécula, a fim de complementar a distinção obtida por CID. Testou-se a reatividade destes cátions metil-azabutadienílicos isômeros com etil vinil éter, um reagente largamente utilizado em reações íon/molécula quando a finalidade é a caracterização estrutural.^{31,32} Por exemplo, epóxidos de ciclo-hexenos protonados foram distinguidos de formas protonadas de cetonas, alcoóis, éteres e ésteres através das reações íon/molécula diagnósticas com etil vinil éter.³³ Kenttämäa e Cooks³⁴ mostraram também que β -hidróxi cetonas rea-

gem seletivamente com etil vinil éter formando cicloadutos. Cooks et al.³⁵ utilizaram também reações íon/molécula entre etil vinil éter e fragmentos específicos gerados a partir de explosivos como o trinitrotolueno (TNT) e a hexa-hidro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazina (RDX) para detectá-los seletivamente através da presença de um produto iônico de reação específico. Benassi e Eberlin¹⁶ também utilizaram reações com vários vinil éteres para diferenciar íons α - e β -naftoila, ao demonstrar a utilidade destes como FIDE para α - e β -acil naftalenos.

A Figura 4 mostra os MS/MS obtidos para as reações íon/molécula com etil vinil éter dos três FIDE isômeros de m/z 70. Note que o cátion 2-metil-2-azabutadienila, ou seja, o isômero N-metilado, é o único a reagir formando um produto intenso de m/z 142. Este produto corresponde à cicloadição [$4^+ + 2$] e esta reatividade é semelhante à observada para o cátion 2-azabutadienila^{19,20} (Esquema 3).

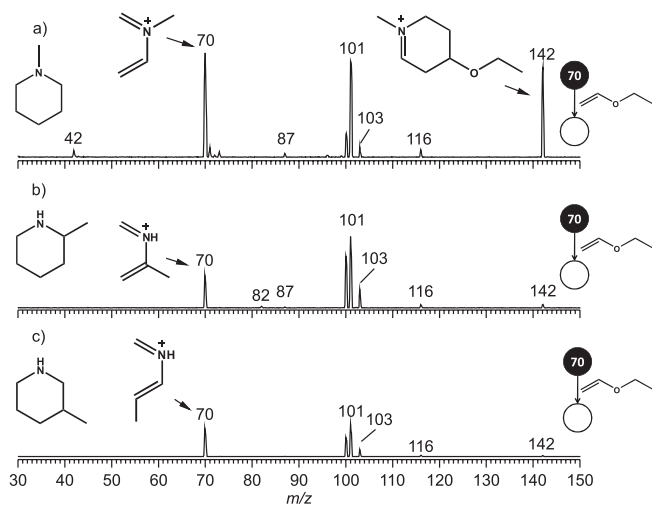
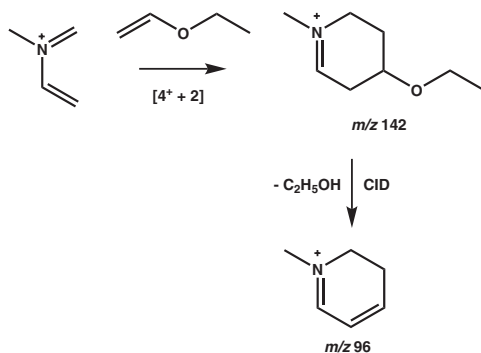


Figura 4. MS/MS por reação íon/molécula entre etil vinil éter e os cátions isômeros metil azabutadienílicos de m/z 70 gerados a partir da (a) 1-metilpiperidina, (b) 2-metilpiperidina, e (c) 3-metilpiperidina



Esquema 3. Cicloadição polar [$4^+ + 2$] entre o cátion 2-metil-2-azabutadienila e etil vinil éter

O espectro MS³ para CID do cicloaduto de m/z 142 mostra como principal caminho dissociativo a perda de uma molécula neutra de etanol (46 Da), e esta fragmentação, que restaura o íon azabutadienila de m/z 70 (Figura 5), é típica dos adutos de éteres vinílicos.¹⁹ Os dois outros isômeros, os cátions 3-metil e 4-metil-2-azabutadienílicos, reagem quase que exclusivamente com etil vinil éter por transferência de próton, reação esta que forma o íon de m/z 101 como produto principal.³³ Este íon é fruto de uma reação íon/molécula secundária que envolve as formas neutra e protonada do etil vinil éter e que promove a sua etilação.

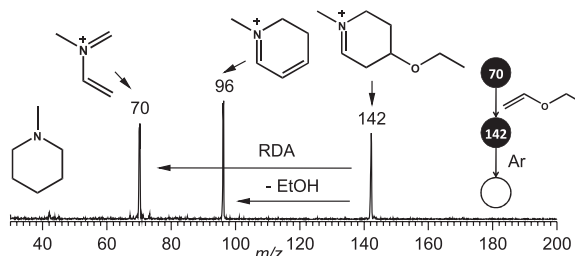
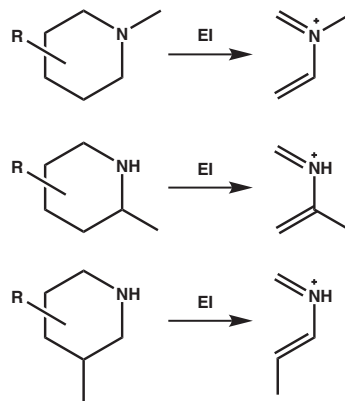


Figura 5. MS³ por CID do produto iônico de m/z 142 formado por cicloadição polar [$4^+ + 2$] entre etil vinil éter e o cátion 2-metil-2-azabutadienila

CONCLUSÃO

Este trabalho descreveu a aplicação, para metilpiperidinas isômeras, de um novo método em MS capaz de realizar atribuição geral e absoluta de configuração de isômeros constitucionais através da caracterização de fragmentos iônicos diagnósticos de estrutura (FIDE). Como FIDE, foram selecionados os cátions 2-metil, 3-metil e 4-metil azabutadienílicos (m/z 70), formados a partir dos seus respectivos precursores por dissociação induzida por EI a 70 eV. Cada um destes 3 íons isômeros apresentou espectros de MS/MS por CID bastante distintos e característicos. Em reações íon/molécula com etil vinil éter, o cátion 2-metil-azabutadienila pode também ser caracterizado e distinguido dos isômeros 3-metil e 4-metil, por reagir pronta e exclusivamente por cicloadição polar [$4^+ + 2$]. O Esquema 4 resume a caracterização proposta e uso geral destes FIDE para várias classes de metilpiperidinas isômeras.



Esquema 4. Estrutura geral de moléculas de metilpiperidinas que podem gerar cátions isômeros metil-2-azabutadienílicos como FIDE que possibilite a atribuição absoluta de sua configuração

AGRADECIMENTOS

Ao apoio financeiro da FAPESP, CAPES, FINEP e CNPq.

REFERÊNCIAS

- Zahedi-Tabrizi, M.; Fariba, T.; Moosavi-Tekyeh, Z.; Alireza, J.; Tayyari, S. F.; *Spectrochim. Acta, Part A* **2006**, *65*, 387.
- Tao, W. A.; Gozzo, F. C.; Cooks, R. G.; *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 1692.
- Ramesh, M.; Raju, B.; Srinivas, R.; Sureshbabu, V. V.; Narendra, N.; Vasantha, B.; *J. Mass Spectrom.* **2010**, *45*, 1461.
- Harvey, D. J.; Jaeken, J.; Butler, M.; Armitage, A. J.; Rudd, P. M.; Dwek, R.; *J. Mass Spectrom.* **2010**, *45*, 528.
- Rainone, R.; Malaspina, T.; Xavier, L. A.; Riveros, J. M.; *Eur J. Mass Spectrom.* **2010**, *16*, 379.
- Correra, T. C.; Riveros, J. M.; *J. Phys. Chem. A* **2010**, *114*, 11910.

7. Fileti, E. E.; Moraes, P. R. P.; Domingues, L.; Riveros, J. M.; *J. Mass Spectrom.* **2007**, *42*, 1310.
8. Crotti, A. E. M.; Lopes, J. L. C.; Lopes, N. P.; *J. Mass Spectrom.* **2005**, *40*, 1030.
9. Furtado, N. A. J. C.; Vessecchi, R.; Tomaz, J. C.; Galembeck, S. E.; Bastos, J. K.; Lopes, N. P.; Crotti, A. E. M.; *J. Mass Spectrom.* **2007**, *42*, 1279.
10. Crotti, A. E. M.; Bronze-Uhle, E. S.; Nascimento, P. G. B. D.; Donate, P. M.; Galembeck, S. E.; Vessecchi, R.; Lopes, N. P.; *J. Mass Spectrom.* **2009**, *44*, 1733.
11. Carvalho, M.; Gozzo, F. C.; Mendes, M. A.; Sparrapan, R.; Kascheres, C.; Eberlin, M. N.; *Chem.--Eur. J.* **1998**, *4*, 1161.
12. Gozzo, F. C.; Eberlin, M. N.; *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 2188.
13. Moraes, L. A. B.; Sabino, A. A.; Meurer, E. C.; Eberlin, M. N.; *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2005**, *16*, 431.
14. da Rocha, L. L.; Sparrapan, R.; Augusti, R.; Eberlin, M. N.; *J. Mass Spectrom.* **2004**, *39*, 1176.
15. Begala, M.; Tocco, G.; Meli, G.; Podda, G.; Urru, S. A. M.; *J. Mass Spectrom.* **2009**, *44*, 245.
16. Benassi, M.; Eberlin, M. N.; *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2010**, *21*, 2041.
17. Benassi, M.; Corilo, Y. E.; Uria, D.; Augusti, R.; Eberlin, M. N.; *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2009**, *20*, 269.
18. Benassi, M.; Eberlin, M. N.; *Anais eletrônicos do Segundo Congresso da Sociedade Brasileira de Espectrometria de Massas*, Campinas, Brasil, 200.
19. Augusti, R.; Gozzo, F. C.; Moraes, L. A. B.; Sparrapan, R.; Eberlin, M. N.; *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 4889.
20. Meurer, E. C.; Eberlin, M. N.; *Int. J. Mass Spectrom.* **2001**, *210*, 469.
21. Schnermann, M. J.; Romero, F. A.; Hwang, I.; Nakamaru-Ogiso, E.; Yagi, T.; Boger, D. L.; *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 11799.
22. Tietze, L. F.; Kettschau, G. Em *Stereoselective heterocyclic synthesis 1*; Metz, P., ed.; Springer-verlag: Berlin, 1997, cap. 1.
23. Venturini, A.; Joglar, J.; Fustero, S.; Gonzalez, J.; *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 3919.
24. Zhao, F. L.; Liu, J. T.; *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 3801.
25. Barluenga, J.; Tomas, M.; Ballesteros, A.; Lopez, L. A.; *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 5680.
26. Meurer, E. C.; Sparrapan, R.; Eberlin, M. N.; *J. Mass Spectrom.* **2003**, *38*, 1075.
27. Juliano, V. F.; Gozzo, F. C.; Eberlin, M. N.; Kascheres, C.; Do Lago, C. L.; *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 1328.
28. Eberlin, M. N.; *Mass Spectrom. Rev.* **1997**, *16*, 113.
29. Budzikiewicz, H.; Djerassi, C.; Williams, D. H.; *Mass spectrometry of organic compounds*, Holden-Day Inc: San Francisco, 1967.
30. McLafferty, F. W.; Turecek, F.; *Interpretation of mass spectra*, 4th ed., University Science Books: Sausalito, 1993.
31. Eberlin, M. N.; *J. Mass Spectrom.* **2006**, *41*, 141.
32. Meurer, E. C.; Sparrapan, R.; Eberlin, M. N.; *J. Mass Spectrom.* **2003**, *38*, 1075.
33. Kenttämäa, H. I.; Pachuta, R. R.; Rothwell, A. P.; Cooks, R. G.; *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 1654.
34. Kenttämäa, H. I.; Cooks, R. G.; *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 4122.
35. Meurer, E. C.; Chen, H.; Riter, L.; Cotte-Rodriguez, I.; Eberlin, M. N.; Cooks, R. G.; *Chem. Commun.* **2004**, *1*, 40.