

APLICAÇÃO DA QUÍMICA QUÂNTICA COMPUTACIONAL NO ESTUDO DE PROCESSOS QUÍMICOS ENVOLVIDOS EM ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Ricardo Vessecchi e Sérgio E. Galembeck*

Departamento de Química, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Av. Bandeirantes 3900, 14040-901 Ribeirão Preto - SP, Brasil

Norberto P. Lopes

Departamento de Física e Química, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Av. do Café, s/n, 14040-903 Ribeirão Preto - SP, Brasil

Paulo G. B. D. Nascimento

Departamento de Farmacologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Av. Bandeirantes 3900, 14049-900 Ribeirão Preto -SP, Brasil

Antônio E. M. Crotti

Núcleo de Pesquisas em Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade de Franca, Av. Dr. Armando Sales Oliveira, 201, 14404-600 Franca - SP, Brasil

Recebido em 4/7/07; aceito em 14/11/07; publicado na web em 19/3/08

APPLICATION OF COMPUTATIONAL QUANTUM CHEMISTRY TO CHEMICAL PROCESSES INVOLVED IN MASS SPECTROMETRY. The field of application of mass spectrometry (MS) has increased considerably due to the development of ionization techniques. Other factors that have stimulated the use of MS are the tandem mass spectrometry (MS/MS) and sequential mass spectrometry (MSⁿ) techniques. However, the interpretation of the MS/MS and MSⁿ data may lead to speculative conclusions. Thus, various quantum chemical methods have been applied for obtaining high quality thermochemical data in gas phase. In this review, we show some applications of computational quantum chemistry to understand the formation and fragmentation of gaseous ions of organic compounds in a MS analysis.

Keywords: theoretical calculations; fragmentation studies; protonation site.

INTRODUÇÃO

No século passado, vários métodos e técnicas para obtenção de parâmetros moleculares aplicando a química quântica a sistemas multi-eletrônicos foram desenvolvidos. Este desenvolvimento foi fortemente impulsionado pelo aumento do poder computacional, conforme previsto pela Lei de Moore,¹ bem como pelo desenvolvimento de novos métodos computacionais e aperfeiçoamento daqueles já existentes. Atualmente, parâmetros como a energia de um sistema em uma dada geometria e frequências vibracionais podem auxiliar na determinação da estrutura e das propriedades químicas de intermediários e de possíveis estados de transição para um dado caminho de reação, além de assistirem na obtenção de correlações entre as entalpias de reação e a temperatura, efeitos isotópicos e energias de dissociação.²

Comumente, nos estudos químico-quântico computacionais utiliza-se como modelo uma molécula isolada no vácuo. Há, portanto, certas similaridades entre estas condições e as condições de baixas pressões no interior de um espectrômetro de massas, onde ocorrem vários fenômenos em fase gasosa.³ Neste contexto, é possível utilizar estes métodos para se estimar uma série de parâmetros de interesse de um espectroscopista de massas, auxiliando na compreensão tanto dos fenômenos de geração de íons como nos processos de fragmentação dos mesmos.

Em processos de ionização, por exemplo, é possível obter parâmetros como a energia de ionização adiabática, basicidade e

afinidade protônica, entre outros.⁴ No caso de substâncias que apresentam vários grupos funcionais ácidos e/ou básicos em suas estruturas, muitas vezes é difícil se identificar qual é o sítio mais suscetível à protonação ou à desprotonação,⁵ mesmo existindo na literatura extensas compilações sobre acidez e basicidade em fase gasosa.⁶ Em princípio, a suscetibilidade à protonação apresentada por dois grupos funcionais diferentes em uma mesma estrutura química pode ser estimada a partir da diferença entre suas basicidades em fase gasosa. Entretanto, quando os grupos funcionais são parecidos, tal como os nitrogênios de cadeia lateral e de anel de histamina ou pirimidinas, a identificação do sítio mais básico não é óbvia.^{7,8} Mesmo em casos aparentemente simples, como o de uma amida carboxílica, com apenas dois possíveis sítios de protonação (O e N), o sítio mais básico não pode ser predito a partir de argumentos simples,⁹ embora isto seja erroneamente feito com frequência, uma vez que a ressonância entre o par de elétrons do nitrogênio e a carbonila do grupo amida resulta em um comportamento muito diferente daquele observado para grupos funcionais semelhantes, tais como aminas e cetonas.

Neste trabalho é apresentada uma revisão da literatura sobre a utilização de parâmetros derivados da teoria dos orbitais moleculares para a compreensão e discussão de processos que ocorrem em espectrometria de massas, tais como os fenômenos de ionização e de fragmentação de íons de compostos orgânicos em fase gasosa. O intuito é mostrar como os conhecimentos de química orgânica e os dados obtidos por métodos computacionais podem ser utilizados em sinergia, evitando assim a elaboração de propostas especulativas que eventualmente são encontradas em artigos envolvendo espectrometria de massas.

*e-mail: segalem@usp.br

ASPECTOS GERAIS RELACIONADOS À GERAÇÃO DE ÍONS GASOSOS EM ESPECTROMETRIA DE MASSAS

A espectrometria de massas (EM) é uma técnica na qual íons gasosos da amostra são gerados e separados de acordo com suas razões massa/carga (m/z).¹⁰ A técnica fornece informações acerca da constituição química de uma amostra, no caso de misturas, bem como de algumas propriedades químicas de seus constituintes. Para fins de elucidação estrutural, a EM geralmente é utilizada para determinação da massa molecular e, em alguns casos, da fórmula molecular do analito, sendo estes dados analisados em combinação com os de outras técnicas espectroscópicas, principalmente ressonância magnética nuclear (RMN) e espectroscopia de absorção nas regiões do infravermelho (IV) e do ultravioleta/visível (UV/vis).¹¹ Entretanto, informações mais específicas sobre a estrutura do analito, tais como a identificação de certos grupos funcionais ou, em alguns casos, a determinação de parte da estrutura, também podem ser obtidas através da análise detalhada e racionalizada do espectro de massas.¹²

De maneira geral, existem três processos químicos principais pelos quais os íons gasosos de uma amostra podem ser gerados em espectrometria de massas: remoção/adção de um elétron, resultando em íons radicais (M^+ ou M^{\cdot}); protonação/desprotonação (reações ácido-base), levando à formação de moléculas protonadas ($[M+H]^+$)/desprotonadas ($[M+H]^-$) e, cationização/anionização, que resultam em moléculas cationizadas (por ex., $[M+Na]^+$)/anionizadas (por ex., $[M+Cl]^-$).¹³ Praticamente todos os métodos de ionização empregam um ou mais destes processos químicos para a geração dos íons gasosos, porém, os arranjos experimentais das fontes de ionização são diferentes. Conseqüentemente, íons gasosos gerados por um mesmo processo químico, por exemplo a protonação, podem ter energias internas diferentes quando forem provenientes de fontes de ionização diferentes, por exemplo, fonte *electrospray* e fonte de ionização química, CI-EM. Dependendo do conteúdo de energia interna que é transferido para o íon durante o processo de ionização, os métodos podem ser classificados em “duros” (*hard ionization*) e “brandos” (*soft ionization*).¹⁴

Nos métodos de ionização “duros”, os íons gerados apresentam um grande conteúdo de energia residual interna. Estes íons tendem a se decompor em íons fragmentos de m/z menores durante o voo. Conseqüentemente, os espectros de massas obtidos apresentam um grande número de íons fragmentos, o que é de grande interesse do ponto de vista da elucidação estrutural, uma vez que estes íons são indicativos da estrutura do íon precursor e, portanto, da estrutura do analito. Em contrapartida, os íons precursores “intactos”, ou seja, que não se fragmentaram durante o voo até o analisador, são geralmente pouco intensos neste tipo de espectro, o que dificulta a determinação da massa molecular e da fórmula molecular. O método de ionização “duro” mais comum é a ionização por elétrons (IE-EM), classicamente conhecida como “ionização por impacto eletrônico”, que é mais adequada para análise de moléculas voláteis e de baixo peso molecular.¹⁵

Nos métodos de ionização “brandos”, uma pequena quantidade de energia é transferida para a amostra, o que resulta em íons com energia residual interna relativamente baixa. Os espectros de massas obtidos quando esses métodos de ionização são utilizados se caracterizam pela presença de poucos íons fragmentos e de íons precursores relativamente intensos. Embora a determinação da massa molecular seja facilitada quando os métodos de ionização “brandos” são utilizados, pouca ou nenhuma informação estrutural pode ser obtida, em virtude do número reduzido de íons fragmentos formados. Dentre estes métodos podem ser citados os métodos

de dessorção, tais como dessorção de campo (*Field Desorption*, FD),¹⁶ bombardeamento por átomos rápidos (*Fast Atom Bombardment* - FAB),¹⁷ espectrometria de massas de íons secundários (*Secondary Ion Mass Spectrometry* - SIMS),¹⁸ ionização por *electrospray* (ESI),¹⁹ e ionização/dessorção a laser assistida por uma matriz (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization* - MALDI),²⁰ que foram desenvolvidos para análise de substâncias termolábeis e de peso molecular elevado.

Métodos de ativação de íons

A dificuldade em se obter informações estruturais empregando métodos de ionização “brandos” por meio da espectrometria de massas em um único estágio impulsionou o desenvolvimento da espectrometria de massas *tandem* (EM/EM)²¹ e da espectrometria de massas seqüencial (EMⁿ).²² Na técnica EM/EM, um íon de m/z específica, chamado de íon precursor, por exemplo, $[M+H]^+$, é selecionado no primeiro estágio de EM e ativado por métodos específicos, de modo a adquirir energia interna suficiente para se decompor em íons fragmentos (os íons produtos) que são úteis para o diagnóstico da estrutura do íon precursor. Em um experimento seqüencial de EM,³ um dado íon fragmento do íon precursor inicial (por ex., $[M+H-H_2O]^+$, íon proveniente da fragmentação de álcoois protonados pela perda de uma molécula de água) pode ser utilizado como precursor em um terceiro estágio de EM, sendo ativado para se fragmentar em íons produtos que, por sua vez, são característicos da estrutura de $[M+H-H_2O]^+$. Este processo pode ser virtualmente repetido n vezes (EMⁿ), onde $n < 10$.²³

Vários métodos foram desenvolvidos para se promover a ativação de íons visando sua fragmentação, tais como dissociação induzida por superfície (*Surface-Induced Dissociation*, SID), dissociação por captura de elétrons (*Electron Capture Dissociation*, ECD), dissociação multifotônica no infravermelho (*Infrared Multiphoton Dissociation*, IRMPD) e dissociação radioativa no infravermelho por corpo negro (*Blackbody Infrared Radiative Dissociation*, BIRD).²⁴ Entretanto, a dissociação induzida por colisão (*Collision Induced Dissociation*, CID) é o método de ativação mais empregado em análises por EM/EM e EMⁿ, podendo ser considerado como universal devido à sua fácil implementação.²⁵ A ativação colisional baseia-se na colisão de um íon precursor selecionado com moléculas de um gás inerte, gás de colisão, geralmente argônio ou hélio. As colisões fazem com que a energia cinética do gás seja transferida ao íon precursor, de maneira que a energia translacional do íon seja convertida em energia interna, aumentando assim a sua tendência para se fragmentar.²⁶

Em espectrômetros equipados com fontes de ionização por *electrospray* é possível promover a ativação colisional já no primeiro estágio da EM, sem a necessidade de utilização do gás de colisão ou do segundo estágio da EM. A técnica, comumente conhecida como “dissociação na fonte” (*in source dissociation*), baseia-se no aumento da voltagem do cone extrator, o que resulta no aumento da velocidade dos íons da amostra e no número de colisões dos mesmos com as moléculas de gás residual que se encontram na região de pressão intermediária, situada entre a fonte de ionização e o analisador.²⁷ Contudo, este método de ativação é mais adequado para análise de substâncias puras, uma vez que no caso de misturas todos os constituintes podem ser ativados indistintamente, não havendo como selecionar nenhum íon precursor específico para ser ativado individualmente. Em resumo, o espectro de massas de uma mistura obtido por “dissociação na fonte” é uma mistura complexa dos íons precursores e dos íons produtos de todos os constituintes da amostra, o que é de pouco interesse para fins de elucidação estrutural.

Aspectos mecanísticos das reações de fragmentação

Os íons gasosos da amostra que apresentam conteúdo de energia interna suficiente para se fragmentar, são decompostos em íons de m/z menor. Em princípio, várias são as reações de fragmentação que podem ocorrer. Dentre estas reações aquela que apresentar a maior constante de velocidade, k , produzirá o maior número de íons fragmentos por unidade de tempo.²⁸ Dependendo da energia interna do íon fragmento formado, este pode fragmentar-se novamente, originando outros íons fragmentos de m/z menor. Íons mais estáveis, ou com altos valores de ΔE^\ddagger , energia de ativação, tendem a serem mais intensos no espectro de massas, porém nem sempre as reações de fragmentação cujos valores de k são maiores levam à formação de íons fragmentos intensos.²⁹

Considerando-se que as reações de fragmentação são consecutivas, ou seja, o íon fragmento formado pode fragmentar-se novamente, dependendo de sua energia interna, é de suma importância se conhecer a estrutura de pelo menos um destes íons – a do íon precursor ou a do íon fragmento – bem como a diferença de massa entre eles, para que a estrutura do outro íon possa ser inferida com base na reação de fragmentação envolvida. Em casos em que a estrutura de uma substância é conhecida e o que se deseja é estabelecer as rotas de fragmentação, o primeiro passo é determinar a estrutura do íon inicialmente formado. A natureza deste íon depende basicamente dos processos químicos envolvidos na fonte de ionização. Para moléculas monofuncionalizadas, a identificação do sítio de onde o elétron foi removido ou do sítio de protonação/desprotonação é uma tarefa relativamente simples. Entretanto, a dificuldade em se identificar estes sítios aumenta consideravelmente em moléculas polifuncionalizadas, o que pode resultar em interpretações equivocadas sobre a estrutura do íon precursor, ou íon “molecular”. No caso de íons moleculares, M^+ e M^+ , a dificuldade reside no fato de que a maioria dos químicos que trabalham com processos em solução não está acostumada a lidar com espécies gasosas carregadas, que apresentam um elétron desemparelhado, os íons radicais.³⁰ Para moléculas protonadas e desprotonadas, o problema é a extensão equivocada de alguns conceitos relacionados à química de solução aos íons gasosos, na tentativa de se propor em qual sítio ocorre a protonação ou desprotonação.³¹ Por fim, na tentativa de se identificar a estrutura de moléculas cationizadas e anionizadas, geralmente não se leva em consideração que as conformações adquiridas em presença de solvente comumente diferem daquelas em fase gasosa.³² Neste contexto, os modelos químico-quânticos embasados na teoria de orbitais moleculares podem ser de grande valia para a identificação dos sítios reativos mais favorecidos para a produção dos íons gasosos.

Uma vez identificada a natureza e a estrutura dos íons formados na fonte de ionização, é preciso analisar a diferença de massas entre estes íons, íons precursores, e os íons fragmentos formados devido às reações de fragmentação. Considerando-se que o íon fragmento formado pode se decompor novamente, é de suma importância identificar a reação de fragmentação envolvida, uma vez que, a partir dela, a estrutura do íon fragmento formado pode ser identificada. Além disso, quando se dispõe de uma série de substâncias que conservam entre si um núcleo estrutural comum, porém com substituintes diferentes em diversas posições do esqueleto carbônico, é possível se determinar a presença ou a ausência de um substituinte, ou mesmo identificá-lo em uma dada região da estrutura molecular onde ocorre uma determinada reação de fragmentação.

Reações de fragmentação espontânea, $\Delta G < 0$, tendem a produzir íons relativamente estáveis, que geralmente são intensos no espectro de massas.³³ Uma análise dos artigos publicados revela que a maioria dos picos base se refere a íons em cuja estrutura a

carga está deslocalizada, como por exemplo íons alílicos ou tropílicos, ou estabilizada pela interação de um orbital não-ligante de um heteroátomo, geralmente N ou O, com o orbital vazio do carbono adjacente, como íons acílios, oxônios e imônios, conforme ilustrado nas Figuras 1 e 2.

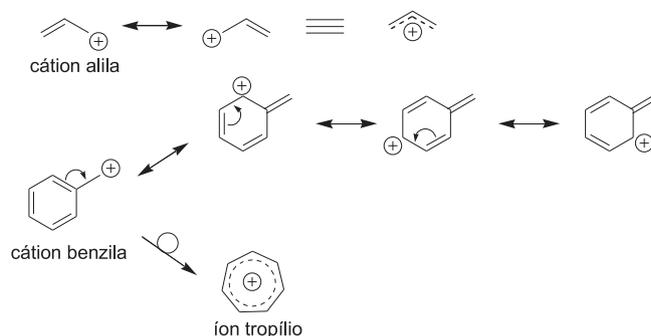


Figura 1. Estabilização por ressonância dos cátions alil e benzil

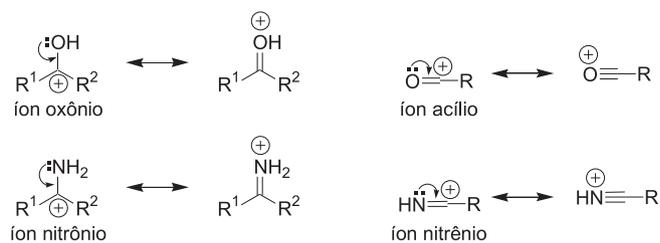


Figura 2. Estabilização dos íons oxônio, acílio, nitrônio e nitrênio pela interação entre o par de elétrons isolados de um heteroátomo e o orbital vazio do carbono adjacente

Apesar de muitos íons estáveis em solução serem também estáveis em fase gasosa, nem sempre é possível prever a sua estabilidade em fase gasosa a partir da sua estabilidade em solução. Isso se deve ao fato de que o solvente exerce um efeito pronunciado na estabilização dos íons,³⁴ conforme evidenciado pelos estudos sobre a basicidade de aminas³⁵ e acidez de álcoois em fase gasosa.³⁶ Estes estudos demonstraram que, em fase gasosa, a ordem de acidez de álcoois e basicidade de aminas é inversa daquela verificada em solução, visto que a estabilidade das espécies conjugadas, desprotonadas e protonadas, é afetada pela interação com o solvente.

Neste contexto, a interpretação do espectro de massas baseada exclusivamente em conceitos clássicos de química orgânica pode resultar em conclusões equivocadas quanto à estrutura e estabilidade dos íons precursores e dos íons fragmento.³⁷ Parâmetros como as frequências vibracionais e as energias relativas podem auxiliar na identificação dos intermediários e dos estados de transição envolvidos em uma dada reação de fragmentação, bem como na determinação das vias de fragmentação, ou caminhos de reação, energeticamente mais favorecidas.³⁸ Estes métodos permitem também prever as estruturas e energias relativas de íons isoméricos, possibilitando a identificação daqueles que são mais estáveis e que têm, portanto, maior participação na distribuição populacional dos íons formados.³⁹

Em resumo, a interpretação do espectro de massas inicia-se pela determinação do sítio de protonação/desprotonação, cationização/anionização ou oxidação/redução. Posteriormente, determina-se a estrutura eletrônica e as grandezas termoquímicas do íon formado (ou de um íon precursor de interesse), traçando-se

um paralelo entre as possíveis reações de fragmentação e a estabilidade dos íons fragmentos que podem ser formados a partir dele.

A QUÍMICA COMPUTACIONAL NA ANÁLISE DE ESPÉCIES EM FASE GASOSA

O enorme progresso da química computacional nas últimas décadas contribuiu para o desenvolvimento de diversas áreas da química.^{40,41} A popularização dos modelos químico-quânticos devido ao desenvolvimento de novos métodos computacionais, além do incremento do poder computacional e do barateamento dos computadores são alguns dos fatores responsáveis por esse progresso.⁴ De fato, muitas idéias da química moderna resultaram da combinação entre técnicas experimentais e cálculos teóricos. Nos últimos anos, a química quântica tem se tornado uma área de interesse multidisciplinar, tendo encontrado aplicação em diferentes áreas da ciência, incluindo a espectrometria de massas.^{42,43}

A seguir serão discutidos alguns parâmetros que podem ser estimados computacionalmente empregando-se métodos teóricos diversos, que podem ser de grande interesse para a compreensão de alguns processos que ocorrem durante a obtenção de um espectro de massas, principalmente dos processos químicos envolvidos na ionização e das reações de fragmentação dos íons formados.

Termoquímica de íons em fase gasosa

A identidade dos íons em fase gasosa, formados na fonte de ionização, está relacionada às suas grandezas termoquímicas, mesmo que em alguns métodos de ionização os processos químicos que levam à formação de tais íons ocorram inicialmente em solução.⁴⁴ Tais grandezas podem ser obtidas experimentalmente ou através de métodos computacionais. A obtenção destas grandezas por meio de métodos experimentais pode ser eventualmente limitada por dificuldades técnicas. No caso do método calorimétrico, por exemplo, existem alguns problemas relacionados à termolabilidade da substância sob estudo e à sua subsequente degradação, bem como à ocorrência de reações paralelas que levam à formação de outros compostos.⁴⁵

Um dos métodos experimentais mais difundidos na literatura para obtenção de grandezas termodinâmicas, como a afinidade protônica e basicidade em fase gasosa, de moléculas biológicas e/ou sintéticas, tais como aminoácidos peptídicos, proteínas e complexos metálicos, é o método cinético, desenvolvido por Cooks e colaboradores.⁴⁶ Este método é embasado na formação e dissociação de um complexo dimérico ligado, por exemplo, $[M_{\text{alvo}} \cdots H \cdots M_{\text{ref}}]^+$, entre a molécula sob estudo, molécula alvo, e uma molécula com grandezas termoquímicas pré-definidas, molécula de referência. As grandezas termoquímicas são estimadas a partir das equações de velocidade de Arrhenius para formação e para decomposição deste complexo.⁴⁶ Todavia, o método cinético tem aplicação limitada quando uma das moléculas (M_{alvo} ou M_{ref}) possui um número maior de sítios de afinidade por uma determinada espécie (geralmente H^+ , Na^+ , K^+ , Cl^- ou elétron) que a outra. Além disso, o método apresenta erros quando moléculas alvo de cadeias lineares (por exemplo, álcoois terciários) são comparadas a moléculas de referência de cadeias não lineares (por exemplo, álcoois primários), ou vice-versa.⁴⁷ Neste caso existe uma diferença de entropia entre os dois íons formados pela fragmentação do complexo (M_{alvo}^+ e M_{ref}^+), o que torna o método mais complexo.⁴⁸ Devido a tais limitações, a aplicação de modelos computacionais para se estimar grandezas termoquímicas tem sido uma alternativa confiável ao método cinético, fornecendo valores teóricos muito próximos aos experimentais ($0,5 \text{ kcal mol}^{-1}$).⁴⁹

Nos últimos anos a termoquímica computacional tem emergido como uma ferramenta importantíssima para obtenção de valores das entalpias e das energias de Gibbs de formação de compostos orgânicos, da afinidade protônica (AP) e da basicidade em fase gasosa (BG).^{50,51} O crescente interesse por estas últimas grandezas termoquímicas deve-se à grande importância das moléculas protonadas ou desprotonadas como intermediários em processos biológicos e das reações de transferência de próton em química orgânica e bioquímica.⁵²



Por definição, o negativo da energia de Gibbs ($-\Delta G$) para a protonação é a basicidade intrínseca de M em fase gasosa (BG), enquanto que o valor da entalpia padrão para a mesma reação, ($-\Delta H^\circ$), é a afinidade protônica (AP) de M.⁵³ No caso da AP, a grande vantagem em obtê-la por modelos computacionais é a possibilidade deste valor ser estimado em termos absolutos ou relativos.⁴⁴

As reações isodésimicas, que conservam o número e o caráter das ligações nos reagentes e nos produtos, e em alguns casos as homodésimicas, uma subclasse das reações isodésimicas, nas quais o caráter da ligação e a hibridização dos átomos são conservados entre produtos e reagentes, vêm sendo empregadas com sucesso na obtenção de grandezas termoquímicas, tais como entropia, entalpia de formação e energia de Gibbs, tanto para espécies neutras como para íons.⁵⁴⁻⁵⁶ Tanto as reações isodésimicas como as reações homodésimicas são propostas a partir de moléculas pequenas, pouco complexas e que contenham o menor número possível de grupos funcionais.⁵⁷ Um exemplo clássico desse tipo de reação é a formação de acetona a partir de etanal e metano (Figura 3), conforme demonstrado por Foresman e Frisch.⁵⁸

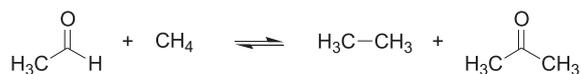


Figura 3. Exemplo de uma reação isodésimica para formação da propanona

Dependendo do método de ionização utilizado e da estrutura da substância analisada, os valores de AP e BG, por si só, podem ser insuficientes para explicar a formação de alguns íons que aparecem no espectro de massas.⁵⁹ Em uma fonte de ionização por *electrospray*, por exemplo, a formação de íons moleculares (M^+) e de moléculas cationizadas, principalmente $[M+Na]^+$ ou $[M+K]^+$, pode competir com a formação de moléculas protonadas, $[M+H]^+$.⁶⁰ Além disso, a formação de íons M^{+2} para substâncias que possuem os dois primeiros potenciais de oxidação muito baixos também pode ocorrer.^{61,62} Entretanto, em alguns casos, a formação de alguns íons radicais (M^{\bullet} e $M^{\bullet+}$) não pode ser explicada apenas com base nos baixos valores de potenciais redox, de AP e de BG, uma vez que a estabilidade dos íons M^+ formados (e conseqüentemente, a sua abundância no espectro de massas) pode ser reduzida por efeitos eletrônicos.⁶³ Nestes casos, além dos valores de AP e de BG, a obtenção de outros parâmetros, como por exemplo, a energia de ionização (EI) e a afinidade eletrônica (AE), é de grande interesse.

A energia de ionização (EI) é definida como a energia necessária para a remoção de um elétron da molécula neutra no estado gasoso.⁶⁴ A EI pode ser definida como a diferença entre as energias da molécula neutra $[E(M)]$ e do íon radical correspondente $[E(M)^{\bullet+}]$ conforme indicado pela Equação 2.

$$EI = E(M) - E(M)^{\bullet+} \quad (2)$$

Por outro lado, a afinidade eletrônica (AE) é uma grandeza que fornece a energia liberada pela substância após a redução, sendo,

portanto, uma medida da estabilidade do ânion radical formado, $M^{\cdot-}$. Devido a problemas na otimização na geometria de ânions radicais, os métodos teóricos a serem aplicados no cálculo da energia desses ânions devem ser escolhidos criteriosamente, conforme será abordado neste artigo.

Uma relação entre AP, AE e EI foi proposta por Ervin,³² conforme mostrado na Figura 4.

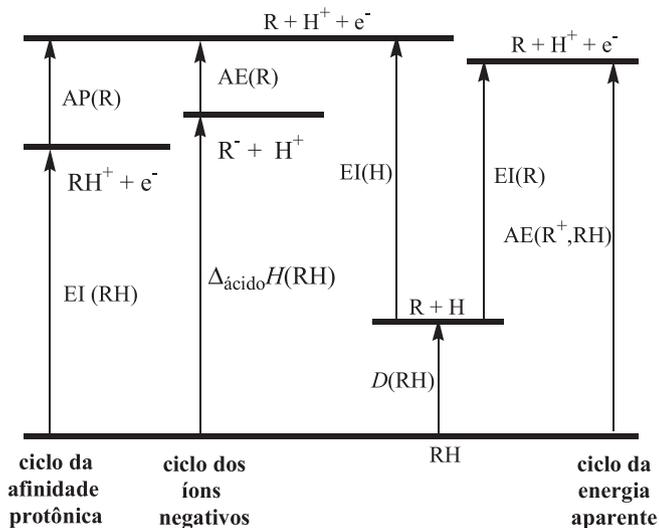


Figura 4. Diagrama de energia para dissociação da ligação $R-H$. O ciclo da afinidade protônica é baseado na abstração do próton a partir de RH^+ , enquanto que o ciclo da energia aparente se baseia na ionização de $R+H$

A procura pelo sítio de protonação/desprotonação

O primeiro passo na interpretação do espectro de massas de substâncias ionizadas por protonação ou por desprotonação é a determinação do sítio em que estes processos ocorrem. Embora a análise de cargas atômicas⁶⁵ e de orbitais de fronteira⁶⁶ possam ser de grande utilidade para a determinação dos possíveis sítios de protonação/desprotonação, a análise das funções de Fukui⁶⁷ fornece resultados mais confiáveis para a protonação.⁶⁸

A função de Fukui é um descritor mecânico-quântico que indica quão propensa está a densidade eletrônica em uma dada posição a sofrer deformações, aceitando ou doando elétrons.^{65,67} A aplicação da aproximação de diferenças finitas para $f(r)$, condensada para um dado átomo k ,^{69,70} conduz às seguintes equações:

$$f^+_{-k} = \rho_k(N+1) - \rho_k(N) \quad (3)$$

$$f^-_{-k} = \rho_k(N) - \rho_k(N-1) \quad (4)$$

onde, $\rho_k(N)$, $\rho_k(N+1)$ e $\rho_k(N-1)$ são as populações eletrônicas do átomo k para a espécie neutra, para a espécie aniônica e para a catiônica, respectivamente; f^+_{-k} é a função de Fukui utilizada para analisar os sítios reativos frente ao ataque nucleofílico, no qual um elétron é adicionado ao sistema. Em contraste, f^-_{-k} é a função de Fukui usada para analisar o sítio reativo frente ao ataque eletrofílico, no qual um elétron é removido do sistema.

Estas funções também podem ser estimadas através dos orbitais de fronteira:⁷¹

$$f^+_{-k} \approx f_{k, \text{LUMO}} = |\psi_{\text{LUMO}}^{\alpha, k}|^2 + |\psi_{\text{LUMO}}^{\beta, k}|^2 = \rho_{\text{LUMO}}^{\alpha, k} + \rho_{\text{LUMO}}^{\beta, k} \quad (5)$$

$$f^-_{-k} \approx f_{k, \text{HOMO}} = |\psi_{\text{HOMO}}^{\alpha, k}|^2 + |\psi_{\text{HOMO}}^{\beta, k}|^2 = \rho_{\text{HOMO}}^{\alpha, k} + \rho_{\text{HOMO}}^{\beta, k} \quad (6)$$

O método mais preciso para prever o possível sítio de protonação emprega o cálculo da diferença entre as energias da molécula neutra e das possíveis espécies protonadas. Este método permite obter a molécula protonada termodinamicamente mais estável, no entanto, seu uso é inviável para moléculas com muitos possíveis sítios de protonação, uma vez que nestes casos o custo computacional aumenta consideravelmente.⁷²

Do ponto de vista clássico, moléculas contendo funções amidas são protonadas preferencialmente no átomo de oxigênio da carbonila (Figura 5), resultando em uma estrutura que é estabilizada por ressonância. Esse mecanismo de protonação foi proposto com base na hidrólise de amidas, onde o solvente (no caso, a água) estabiliza o íon formado.⁷³ Estudos realizados por Bagno e colaboradores,⁵ demonstraram que, em fase gasosa, a protonação de amidas pode não ocorrer no átomo de oxigênio da carbonila. Similarmente, estudos sobre a protonação de amino-fosfinas empregando ESI-EM revelaram que o próton se liga ao átomo de nitrogênio, e não ao de oxigênio.⁷⁴ Segundo os autores, a protonação ocorre neste sítio devido às possíveis ligações de hidrogênio intramoleculares.

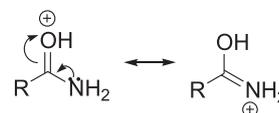


Figura 5. Possíveis estruturas de ressonância para amida protonada

Em experimentos de espectrometria de massas *tandem* (EM/EM), que empregam a ativação colisional, deve-se levar em consideração que a colisão da molécula protonada com o gás de colisão pode promover a migração do próton, do sítio mais básico da molécula, para regiões termodinamicamente menos favorecidas.⁷⁵ Desta forma, nem sempre a espécie contendo o próton ligado ao sítio mais básico da molécula pode ser considerada como sendo o íon precursor a partir do qual a fragmentação vai ocorrer. Este fato requer que o espectrometrista, antes de estabelecer possíveis vias de fragmentação, seja capaz de reconhecer não apenas os diversos sítios nucleofílicos ou eletrofílicos da molécula, como também interpretar as possíveis estabilidades dos intermediários formados durante o processo de migração/estabilização do próton.

Neste contexto, os índices nucleofílicos atômicos (f^-_k) devem ser inicialmente determinados através de uma das equações aproximadas (Equação 4 ou 6),⁷⁰ e relacionados à densidade e localização do HOMO na molécula,⁶⁶ para que os sítios de protonação mais prováveis sejam identificados. Na sequência, as energias das possíveis moléculas protonadas devem ser obtidas para que uma relação entre a estabilidade termodinâmica desses íons e a probabilidade de protonação nos respectivos sítios possa ser traçada.

Embora as funções de Fukui (f^-_k) possam ser utilizadas para se prever os prováveis sítios de uma molécula nos quais podem ocorrer reações com nucleófilos, por exemplo, OH^- , estas funções não são utilizadas para se estimar os sítios de desprotonação. Para este propósito, a análise das cargas atômicas⁶⁵ e o cálculo da estabilidade das respectivas moléculas desprotonadas, obtidas pela remoção de um próton dos sítios mais prováveis, são as formas mais apropriadas de se estimar a acidez de cada um dos sítios e, portanto, de se avaliar a probabilidade de desprotonação para cada um deles.

Cátions/ânions radicais

A aplicação de métodos químico-quântico computacionais a íons radiculares, M^+ e $M^{\cdot-}$, encontra algumas dificuldades técnicas. As otimizações de geometria muitas vezes são de difícil convergência e, também se observa a contaminação de *spin* nas fun-

ções de onda.⁷⁶ Estes problemas foram em grande parte contornados com os avanços nos algoritmos de cálculo autoconsistente e de otimização, e com a popularização dos métodos DFT irrestritos.⁷⁷

PROPRIEDADES MOLECULARES *in silico*

O emprego da teoria de orbitais moleculares permite estimar uma série de propriedades estruturais e energéticas dos íons, que podem ser de grande interesse para o espectroscopista de massas. Contudo, dependendo do íon e dos objetivos de cada estudo, nem todas as propriedades discutidas a seguir neste artigo precisam ser exploradas. Cada propriedade poderá ser relacionada pontualmente a um dado problema, conforme a necessidade.

Geometria

A otimização da geometria é uma etapa indispensável em estudos sobre reações iônicas em fase gasosa, pois só assim serão obtidas estruturas confiáveis dos reagentes, estados de transição, intermediários e produtos. É bem estabelecido que o método HF (Hartree-Fock)⁷⁸ subestima, enquanto que o MP2⁷⁹ superestima os comprimentos das ligações químicas, comparando-se com aqueles observados experimentalmente. O desvio médio dos valores experimentais obtido por Pople e colaboradores⁸⁰ empregando-se o conjunto de funções de base 6-31G(d) para um grande número de moléculas contendo átomos do primeiro período da tabela periódica foi de $\pm 0,010$ Å. Desvios médios de aproximadamente $\pm 0,020$ Å⁸¹ foram obtidos para moléculas contendo átomos do segundo período, empregando o modelo químico composto G2.⁸² Para os ângulos de ligação o desvio médio em relação ao valor experimental é de aproximadamente $1,16^\circ$, podendo ser reduzido para $0,67^\circ$ quando os efeitos de correlação eletrônica são incluídos pelo método MP2.⁸⁰ Os ângulos diedros apresentam desvios consideravelmente maiores. Contudo, para alguns casos específicos, o método MP2 conduz a geometrias inconsistentes com os dados experimentais. Estas situações ocorrem principalmente com espécies em sistemas de camada aberta, principalmente íons radicais, onde a alta contaminação de spin interfere na descrição da função de onda irrestrita.^{76,77}

Métodos baseados na Teoria do Funcional de Densidade (*Density Function Theory*, DFT)⁸³ fornecem resultados similares aos dos modelos *ab initio* mais comuns, tais como MP2 e MP4, e modelos compostos, como o G2, para otimização da geometria, pois incorporam parcialmente os efeitos da correlação eletrônica. A grande vantagem em se aplicar os métodos DFT está no baixo custo computacional quando comparado aos métodos pós-Hartree-Fock, como o MP2. Além disso, os parâmetros geométricos obtidos pelos métodos DFT possuem a mesma qualidade daqueles otimizados por MP2.⁸⁰ Tais parâmetros podem ser mais precisos quando fornecidos por funcionais híbridos, como por exemplo, B3LYP e B3P86.⁸³

Frequências vibracionais

Os métodos computacionais, *ab initio* ou DFT, calculam as frequências vibracionais pela aproximação harmônica. Isso faz com que as mesmas sejam superestimadas em comparação com os valores experimentais. Um método comum de correção é o uso de fatores de escala, como os encontrados no sítio do NIST (*National Institute of Standards and Technology*).⁸⁴ Scott e Random⁸⁵ propuseram o uso de diferentes fatores de escalonamento para baixas frequências e para a energia vibracional no ponto zero. Contudo, estes fatores de escalonamento nem sempre resultam na melhoria

dos resultados.⁸⁶ Os valores das frequências vibracionais obtidos pelo método HF apresentam erros muito grandes,⁷⁸ enquanto aqueles obtidos pelo método MP2 são mais próximos dos experimentais. Contudo, mesmo em métodos que incluem grande parte da correlação eletrônica, tais como o método QCISD (*Quadratic Configuration Interaction with Single and Double Excitations*), as frequências harmônicas fundamentais são superestimadas.⁸⁷

De modo geral, os métodos DFT são úteis para a reprodução de frequências vibracionais.⁸⁰ As intensidades das frequências vibracionais obtidas por estes métodos apresentam uma boa correlação com os métodos *ab initio* que incluem uma grande porcentagem da correlação eletrônica (principalmente QCISD). Entretanto, os métodos DFT são muito utilizados devido à possibilidade de se calcular analiticamente as intensidades das bandas de absorção no infravermelho.⁸⁸

O emprego dos funcionais híbridos apresenta erros menores em relação aos funcionais não híbridos no cálculo das frequências vibracionais.^{89,90} Assim, o método B3LYP fornece erros menores que aqueles obtidos pelo método MP2. O grande interesse na aplicação do método B3LYP deve-se ao fato que os erros não dependem do tamanho da função de base empregada, uma vez que os resultados obtidos com uma base de zeta múltiplo são similares aos obtidos para as bases mínimas. Uma outra vantagem deste método é a possibilidade de se estimar as frequências vibracionais e as intensidades das bandas de absorção no infravermelho de moléculas contendo átomos de primeiro e segundo períodos.⁹¹

Os valores das frequências vibracionais podem ser de grande utilidade em estudos cujo objetivo é determinar as vias de fragmentação de um determinado íon. Nestes casos, as estruturas de vários íons intermediários são propostas e os valores de suas respectivas frequências vibracionais são obtidos. As estruturas que apresentarem frequências vibracionais imaginárias maiores que 100 a 150 cm^{-1} indicam que a espécie é um estado de transição⁹²⁻⁹⁴ e, portanto, não correspondem à estrutura dos íons fragmentos observados no espectro de massas.

Determinação dos estados de transição

O perfil da superfície de energia potencial de uma reação de fragmentação pode ser de grande interesse para suportar um mecanismo sugerido para a formação de um determinado íon fragmento. Através da análise deste perfil e com base no postulado de Hammond⁹⁵ é possível estabelecer correlações entre as estruturas do íon precursor (reagente), do estado de transição (E. T.) e do íon fragmento (produto). Entretanto, existem dois fatores que podem dificultar a determinação da estrutura do estado de transição em uma dada reação: pode haver vários estados de transição possíveis para a formação de um mesmo íon fragmento e, a energia interna dos íons precursores pode ser alta o suficiente para suprir a barreira de ativação de vários mecanismos possíveis, que levam à formação do íon fragmento em questão.^{25,96} Nestes casos em que a cinética da reação não fornece dados suficientes para se sugerir um mecanismo de reação, a termodinâmica de reações espontâneas ($\Delta G < 0$) que leva à formação de um determinado íon fragmento pode ser de grande utilidade para se estabelecer um mecanismo de fragmentação plausível. Por outro lado, quando a reação de fragmentação não é espontânea do ponto de vista termodinâmico ($\Delta G > 0$) e assumindo-se que não há equilíbrio entre os produtos (íon fragmento+molécula/radical eliminado) e reagentes (íon precursor) nas condições em fase gasosa em que a reação está ocorrendo, os mecanismos de dissociação unimolecular podem ser sugeridos a partir dos possíveis E. T.⁹⁷

O estado de transição de uma determinada reação de fragmentação pode ser proposto com o auxílio de programas computacionais

de duas formas. Uma delas é propor uma possível estrutura do E. T. e conduzir a otimização da geometria desta estrutura de modo a encontrar um valor imaginário da frequência vibracional, que caracteriza o E. T. Uma outra maneira é partir das estruturas do íon precursor e do íon fragmento e obter a estrutura do E. T. através de uma busca na hipersuperfície de energia potencial.⁹⁸

Embora os recursos disponíveis atualmente possibilitem analisar vários dos possíveis estados de transição de uma reação, nem sempre é possível obter um dado estado de transição, pois às vezes, a otimização de geometria converge para uma estrutura de mínimo de energia e não um ponto de sela. Além disso, a ausência de valores experimentais para a estrutura e a energia de estados de transição compromete a confiabilidade nos resultados obtidos por modelos teóricos.

Energias

A seguir serão abordados os principais modelos teóricos compostos empregados para a obtenção de grandezas termoquímicas. Os resultados obtidos por estes modelos serão comparados com aqueles fornecidos por métodos DFT, com o intuito de familiarizar o leitor à aplicabilidade de cada um destes modelos nos cálculos da estrutura eletrônica molecular. Entretanto, o formalismo dos métodos DFT, assim como métodos baseados na teoria perturbacional, não serão abordados em detalhes neste artigo, uma vez que se encontram publicados vários livros e artigos de revisão.^{99,100} Um modelo químico é construído para estimar a função de onda molecular e, a partir desta, a energia, a estrutura eletrônica e a geometria, dentre outras propriedades de íons e moléculas. Este modelo é composto por um método e uma função de base gaussiana, como HF/3-21G.^{58,101} Os modelos químicos compostos foram introduzidos para obtenção de grandezas termoquímicas com grande exatidão, uma vez que combinam diversos métodos para o cálculo destas e de outras propriedades moleculares.¹⁰¹ Todos os modelos compostos consideram que as propriedades moleculares convergem com diferentes velocidades quando o nível de sofisticação do cálculo aumenta e os efeitos do conjunto de funções de base têm um certo grau de aditividade. A diferença entre os vários modelos compostos está no método utilizado para otimização da geometria e para cálculo da energia de ponto zero, no tratamento para recuperar a correlação eletrônica, nas considerações sobre a finitude das funções de base gaussianas e nas correções com relação às energias spin-órbita e de correlação do caroço. Dentre estes modelos, cinco merecem destaque: os *Complete Basis Set* (CBS),¹⁰² os modelos Gaussian (*Gn*),¹⁰³ os modelos Weinman (*Wn*),¹⁰⁴ os modelos de correlação com uso de multi-coeficientes (MCCM)¹⁰⁵ e os esquemas propostos por Morgon.¹⁰⁶

Os modelos CBS, propostos por Petersson e colaboradores, utilizam métodos de alto nível de correlação eletrônica, combinados à extrapolação das funções de base.¹⁰² Os modelos *Gn*, introduzidos por Pople *et al.*,¹⁰³ também estimam a energia dos sistemas com alto nível de correlação, porém empregam grandes conjuntos de funções de bases, embasados em cálculos de alto nível para correção da energia de ponto zero. Um grande número de pequenas variações foram propostas para estes modelos. Os modelos *Wn*¹⁰⁴ empregam a extrapolação de funções de base, de forma similar aos modelos CBS, porém diferem dos mesmos quanto aos métodos empregados para cálculo da energia molecular. Por sua vez, os esquemas propostos por Morgon¹⁰⁶ utilizam pseudopotenciais para descrição de orbitais de caroço da estrutura eletrônica. Os MCCMs envolvem mais de um nível de teoria para cálculo da estrutura eletrônica e diferentes conjuntos de funções de bases, em combinação com parâmetros empíricos.¹⁰⁵

O interesse em se conhecer cada modelo composto está em se empregar aquele mais adequado para se obter as propriedades termoquímicas para uma determinada classe de substâncias, com o melhor desempenho e com menor custo computacional. Cada modelo tem sua versatilidade e aplicabilidade características, porém a maioria deles ainda é limitada, quanto à aplicação, a moléculas com grande número de átomos. Para ilustrar a diferença entre os modelos compostos, a seguir será feita uma comparação entre os modelos *Gn* e CBS, que são os mais usados para obtenção de grandezas termoquímicas.

Os modelos químicos *Gn* (Gaussian)¹⁰³ combinam a otimização de geometria em um dado modelo, a da frequência vibracional em outro e cálculos da energia de um sistema levando-se em conta a correlação eletrônica e efeitos de incompletude da função de onda. Na Tabela 1 estão apresentados os métodos utilizados para otimização da geometria, da energia e para cálculo das grandezas termoquímicas pelos modelos compostos G1, G2, G3 e G3B3.¹⁰⁷

Os modelos G1, G2 e G3¹⁰³ utilizam os métodos MP2⁸⁰ para otimização da geometria molecular. Para moléculas maiores a otimização com esse método pode ser inviável. Para isso, variantes dos modelos *Gn* foram elaboradas, como G3B3 no qual a otimização da geometria e o cálculo de frequências vibracionais é realizada com o uso do B3LYP/6-31G(d).¹⁰⁷ As etapas subsequentes são as mesmas empregadas nos outros modelos *Gn* (Tabela 1).

O modelo G2 foi aplicado pela primeira vez no cálculo da entalpia de formação de um conjunto de 148 moléculas orgânicas.¹⁰⁸ Este conjunto de compostos incluiu 29 radicais, 35 sistemas não hidrogenados, 22 hidrocarbonetos, 47 hidrocarbonetos substituídos e 15 hidretos inorgânicos. Os valores obtidos neste estudo foram bem próximos aos experimentais, com um desvio médio absoluto de 6,6 kJ mol⁻¹, o que indica a boa confiabilidade do modelo G2. Contu-

Tabela 1. Modelos *Gn*

	G1	G2	G3	G3B3
Geometria	MP2/6-31G(d)	MP2/6-31G(d)	MP2/6-31G(d)	B3LYP/6-31G(d)
Energia	HF/6-311G(2df,p) MP2/6-311G(2df,p)	HF/6-311+G(3df,2p) MP2/6-311+G(3df,2p)	HF/G3 Large MP2/G3 Large	HF/G3Large MP2/ G3 Large
Alta ordem de correlação eletrônica	MP4(SDTQ)/6-311G(d,p) MP4(SDTQ)/6-311G(2df,p) MP4(SDTQ)/6-311+G(d,p) QCISD(T)/6-311G(d,p)	MP4(SDTQ)/6-311G(d,p) MP4(SDTQ)/6-311+G(d,p) MP4(SDTQ)/6-311G(2df,p) QCISD(T)/6-311G(d,p)	MP4/6-31G(d) MP4/6-31+G(d) MP4/6-31G(2df,p) QCISDT/6-31G(d) QCISD(T)/6-31G(d) QCISD(T)/G3large	MP4/6-31G(d) MP4/6-31+G(d) MP4/6-31G(2df,p) QCISD(T)/6-31G(d)
Termoquímica	HF/6-31G(d)	HF/6-31G(d)	HF/6-31G(d)	B3LYP/6-31G(d)
Fator de escalonamento	0,893	0,893	0,893	

do, este modelo não se revelou adequado para análise de algumas substâncias, principalmente aquelas que contêm halogênios, anéis insaturados e dióxido de enxofre em suas estruturas. Além disso, o modelo G2 apresenta falhas, uma vez que os métodos MP n empregados apresentam problemas na convergência de sistemas radicalares, além de uma alta contaminação de spin.⁷⁶

Embora os modelos G_n sejam amplamente utilizados, outro conjunto de modelos compostos foi desenvolvido por Peterson e colaboradores. Nestes modelos, chamados de CBS (*Complete Basis Sets*), (Tabela 2), é utilizada a extrapolação da energia perturbacional de segunda ordem (MP2) na obtenção da energia de correlação do sistema.¹⁰² Ao contrário dos modelos G_n , que assumem a aditividade do conjunto de funções de base e adicionam uma correção empírica para recuperar a parte restante da correlação eletrônica não calculada pelos métodos empregados, os modelos CBS empregam a extrapolação explícita da energia de correlação para funções de base infinitas.

Para os modelos CBS-4 e CBS-q, a otimização da geometria, o cálculo da energia SCF e a análise termoquímica são obtidas pelo método HF/3-21G^(*).¹⁰⁹ A diferença entre os dois modelos é o método de correlação empregado, uma vez que em ambos os casos se emprega o método MP4(SDQ), mas no caso do CBS-q o modelo QCISD(T)/6-31G também é utilizado.

O modelo composto CBS-Q emprega o método MP2 para a otimização da geometria, o que representa uma desvantagem pelos mesmos motivos mencionados para os modelos G1, G2 e G3. Entretanto, este modelo considera funções de base para o cálculo da energia, que incluem funções de polarização e funções difusas.¹¹⁰

Dentre os modelos compostos CBS, o modelo CBS-APNO é o único que faz o cálculo de otimização de geometria e de frequências vibracionais com o uso de um método de interação de configurações, o QCISD. Os desvios dos valores experimentais são muito pequenos, mas esse modelo só pode ser empregado para moléculas de poucos átomos, pois o QCISD demanda vastos recursos computacionais.

Hammerun¹¹¹ empregou os modelos G3, G2MP2 (que emprega o método MP2 para o cálculo da correlação eletrônica) e CBS-Q para o estudo de 29 moléculas orgânicas, tendo relatado uma boa correlação entre os calores de formação obtidos por esses modelos. Hammerun e Solling¹¹² também aplicaram os modelos químicos G2(MP2) e CBS-Q no cálculo da afinidade por próton para iminas alifáticas. Os resultados obtidos diferem de 0,5 kcal mol⁻¹ entre os dois modelos. Embora esses modelos forneçam resultados precisos, sua aplicabilidade é limitada por envolverem etapas de otimização de geometria ou de cálculo de frequências vibracionais que empregam métodos como o MP2 ou o MP4(SDTQ) com o conjunto de funções de bases grandes, como 6-311G(2df,p), o que resulta em um grande custo computacional e um tempo excessivo para a avaliação das energias moleculares. Para moléculas maiores, ou para avaliações mais rápidas foram desenvolvidos métodos compostos que empregam etapas de cálculo menos exigentes computacionalmente, como os G3B3, CBS-q e CBS-4, por exemplo.

Para a maioria dos modelos teóricos empregados atualmente, os melhores resultados são descritos para moléculas lineares, as quais possuem um pequeno número de substituintes e pouca complexidade estrutural. Um exemplo foi o estudo sistemático empregando o método DFT híbrido B3LYP com os conjuntos de funções de bases idealizadas por Pople para estimar a acidez e a basicidade em fase gasosa de 49 espécies ácidas e 32 espécies básicas, porém apenas 5 dessas espécies apresentavam estruturas cíclicas.¹¹³ A baixa eficiência destes modelos teóricos quando aplicados no estudo de moléculas protonadas deve-se ao fato de que a protonação pode influenciar no grupo de simetria da molécula e, por conseqüência, faz com que seus modos vibracionais contribuam para o aumento da entropia molecular.¹¹⁴

Deve ser ressaltado que a utilização de modelos compostos não garante resultados melhores que aqueles obtidos pelos métodos DFT.¹¹⁵ Por esta razão, o desenvolvimento de métodos computacionais para o estudo de moléculas orgânicas, que produzam resultados termoquímicos cada vez mais próximos dos experimentais, ainda é tópico de intensa pesquisa.

Análise da função de onda

Um dos aspectos mais importantes dos processos químicos em fase gasosa é a reorganização de cargas no sistema molecular quando este reage com um íon ou se ioniza (por exemplo, por protonação/desprotonação ou oxidação/redução). A protonação de um heteroátomo, por exemplo, pode resultar na distribuição de carga de maneira não uniforme pela molécula.¹¹⁶

A distribuição de cargas atômicas pode ser estimada por análises apropriadas das funções de onda, que podem ser obtidas pelos métodos *ab initio* ou DFT. A distribuição de população de Mulliken¹¹⁷ é a mais utilizada para este fim, porém apresenta limitações, como a dependência muito grande com o método e com as funções de base, e freqüentemente não descreve com confiabilidade a reatividade molecular. Devido a estas limitações, outros métodos têm sido empregados para se analisar a distribuição de cargas em um sistema, tais como o método NPA (*Natural Population Analysis*)¹¹⁸ e o método AIM (*Atoms In Molecules*).¹¹⁹ O primeiro baseia-se na análise de um tipo de orbitais localizados¹¹⁸ e o último obtém as cargas pela integração da densidade eletrônica no domínio atômico e permite a análise da densidade eletrônica (ρ) e de seu laplaciano em pontos de inflexão do gradiente da densidade eletrônica, os pontos críticos. Estes dois métodos podem ser utilizados na análise da molécula neutra e, posteriormente, do íon formado (por exemplo, a molécula protonada). A comparação entre os valores da densidade eletrônica no ponto crítico de ligação, ρ (*bond critical point* – BCP) obtido pelo método AIM, nas formas neutra e protonada vêm sendo correlacionada à basicidade da substância de interesse.^{120,121} Nos estudos com anilinas substituídas, Graña *et al.*¹²¹ compararam ρ (C-N) e ρ (N-H) e demonstraram que os compostos mais básicos possuíam os maiores valores de ρ (N-H).

Tabela 2. Modelos CBS

	CBS-4	CBS-q	CBS-Q	CBS-APNO
Geometria	HF/3-21G(d)	HF/3-21G(d)	MP2/6-31G(d)	QCISD/6-311G(d,p)
Energia HF	HF/6-311++G(2df,p)	HF/6-311++G(2df,p)	HF/6-311++G(2df,2p)	
MP2/	MP2/6-31+G(d)	MP2/6-31+G(d)	MP2/6-311++G(2df,2p)	
Alta ordem de correlação	MP4/6-31G	MP4/6-31G(d)	MP4/6-31+G(3d(f),d,p)	QCISD(T)/6-311+G(3df,p)
		QCISD(T)/6-31G	QCISD(T)/6-31+G(d)	
Termoquímica	HF/3-21G	HF/3-21G	HF/6-31G(d)	HF/6-311G(d,p)
Fator escalonamento	0,917	0,917	0,918	0,925

A análise das funções de onda também é importante no sentido de se conhecer as características das interações de cátions e ânions com as moléculas em fase gasosa. Neste sentido, ambos os métodos podem fornecer informações sobre o caráter da ligação do complexo formado e sua estabilidade.¹²²

APLICAÇÕES DA QUÍMICA COMPUTACIONAL EM ESTUDOS EMPREGANDO ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Nesta seção serão abordadas algumas formas pelas quais a química quântica computacional pode ser utilizada em estudos envolvendo a espectrometria de massas. Serão considerados alguns trabalhos nos quais o emprego do modelo computacional teve importância relevante, ou mesmo foi o ponto de partida para se estabelecer os sítios reativos frente à ionização ou para se propor as vias de fragmentação.

Sítios de protonação, migração de próton e estabilidade das moléculas protonadas/desprotonadas

A determinação dos sítios de protonação ou de desprotonação de uma determinada substância em fase gasosa representa a primeira etapa para se investigar as suas vias de fragmentação por espectrometria de massas. Conforme abordado anteriormente, o sítio básico no qual a protonação ocorre preferencialmente pode ser estimado por vários parâmetros, tais como os índices nucleofílicos atômicos, as funções de Fukui, a topologia dos orbitais de fronteira, a afinidade protônica (AP) e a basicidade em fase gasosa (BG), os quais podem ser obtidos computacionalmente.

Davalos e colaboradores investigaram todos os possíveis sítios de protonação do adamantano ($C_{10}H_{16}$, Figura 6) utilizando MP2/6311++G(3df,2dp)//MP2/6-311++G(d,p), o que levou a obtenção de dados em concordância com os experimentais obtidos por FTICR.¹²³ A transferência de prótons em relação a 16 bases diferentes também foi estudada.



Figura 6. Estrutura do adamantano

Para moléculas contendo vários sítios suscetíveis à protonação, principalmente átomos de nitrogênio, os dados teóricos são de grande utilidade. Para derivados nicotínicos, por exemplo, foi demonstrado que a protonação ocorre preferencialmente no N pirrólico (sp^3) quando este se encontra substituído,^{124,125} de maneira similar ao observado em solução.¹²⁶ Entretanto, na ausência de substituintes, a protonação ocorre no nitrogênio piridínico (sp^2).¹²⁴ Mais recentemente, a basicidade em fase gasosa (BG) de novos derivados da nicotina e nornicotina (Figura 7) foi investigada por FTICR em conjunto com métodos DFT e os resultados teóricos e experimentais foram muito próximos.¹²⁵

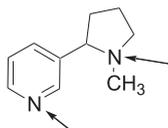


Figura 7. Estrutura da nicotina. As setas indicam os possíveis sítios de protonação em fase gasosa, de acordo com ref. 126

Para ácidos carboxílicos, amidas, poliamidas e moléculas polifuncionalizadas em geral, que apresentam vários possíveis sítios de protonação, é difícil de se estimar qual deles é o mais favorecido a partir dos valores de BG. Isto se deve a dificuldade de se obter BGs para moléculas que apresentam vários possíveis sítios de protonação, tanto por métodos experimentais ou teóricos, sendo que para os últimos há a grande desvantagem do alto custo computacional. Deste modo, a obtenção de parâmetros que permitam a distinção entre os sítios básicos de tais moléculas pode ser de grande valia. Nos estudos com 2-acilaminas-1,4-naftoquinonas, Vessecchi e colaboradores⁹⁷ obtiveram o sítio de protonação pela análise dos índices nucleofílicos atômicos, calculados pelo método PM3. Os autores concluíram que a protonação ocorre no átomo de nitrogênio (Figura 8).

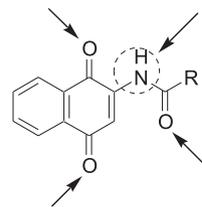


Figura 8. Estrutura básica de 2-acilamina-1,4-naftoquinonas. As setas indicam os possíveis sítios de protonação. O sítio básico determinado por PM3 foi indicado pelo círculo tracejado

Recentemente, os sítios de protonação de dicetopiperazinas (diamidas) foram investigados por Furtado e colaboradores empregando-se o método B3LYP/6-31++G(d,p).³³ Através da análise das funções de Fukui, da topologia dos orbitais HOMO e da energia de Gibbs das moléculas protonadas pode-se concluir que o sítio mais suscetível à protonação é o átomo de nitrogênio sp^3 mais substituído (Figura 9), em concordância com os trabalhos sobre a basicidade de aminas³⁶ e de nicotinóides^{124,125} em fase gasosa. A identificação do sítio de protonação foi uma etapa determinante para se estabelecer o efeito da ativação colisional sobre a migração do próton em experimentos de ESI-CID-EM/EM, possibilitando assim a identificação da estrutura do íon precursor a partir do qual foram formados os íons fragmentos observados no espectro de massas.

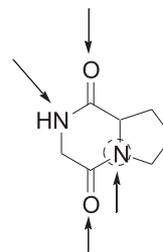


Figura 9. Estrutura básica de dicetopiperazinas. As setas indicam possíveis sítios de protonação. O átomo de N circulado é o de maior basicidade

Bouchoux e Leblanc empregaram CI-EM para obter os valores de BG e AP de uma série de lactonas α,β -insaturadas e compararam os resultados obtidos com os de seus análogos saturados.¹²⁷ Os autores concluíram que a basicidade destes compostos aumenta com o tamanho do anel lactônico, e que as lactonas insaturadas são mais básicas que os análogos saturados. No mesmo estudo, foi descrito que as lactonas são mais básicas que os respectivos ésteres alifáticos contendo o mesmo número de átomos de carbono. Os valores experimentais de AP, obtidos através de FTICR, foram corroborados pelo uso do modelo químico G2(MP2, SVP). Os autores também estabe-

leceram que o sítio de protonação termodinamicamente mais favorecido é o oxigênio da carbonila, embora a protonação no carbono α , insaturado, também resulte em uma molécula protonada que corresponde a um mínimo na superfície de energia potencial. A migração do próton para o átomo de oxigênio adjacente é uma etapa determinante para a fragmentação, uma vez que resulta em um íon energeticamente instável, e conduz à proposta do mecanismo de fragmentação dessas moléculas, como será abordado.¹²⁹

Nos estudos de desprotonação e, conseqüente formação de ânions em fase gasosa, a entalpia de formação destes íons pode ser estimada pelo uso da termoquímica computacional.¹³⁰ A análise das cargas atômicas pode indicar qual o hidrogênio mais ácido da molécula, sugerindo o sítio mais provável para a desprotonação. Porém, a acidez ($\Delta G_{\text{ácido}}$) deve ser sempre obtida através da estrutura eletrônica do ânion formado em sua estrutura otimizada.¹³⁰

Broadus e Kass¹³¹ estimaram a entalpia de desprotonação e a acidez de hidrazinas cíclicas empregando o modelo químico CBS-APNO. Os resultados descritos pelos autores são muito próximos aos valores experimentais, com um erro absoluto da ordem de 0,5 kcal mol⁻¹ para a acidez.

As estabilidades dos ânions, cátions e radicais de glicina em fase gasosa foram estudadas por MP2 e comparadas aos resultados obtidos por FTICR.¹³² Os valores de acidez e basicidade foram comparados aos valores obtidos computacionalmente, o que possibilitou a proposição dos sítios de protonação/desprotonação termodinamicamente estáveis para a glicina.

Estudo da estrutura e estabilidade de moléculas complexadas com cátions/ânions

Existem na literatura vários artigos que empregam a combinação entre espectrometria de massas e métodos computacionais para a investigação da estrutura de moléculas de interesse biológico¹³³ (aminoácidos, peptídeos, oligossacarídeos, etc) coordenadas com íons metálicos, principalmente de metais alcalinos.^{133,134} A importância destes estudos deve-se ao fato de que as interações entre metais e substâncias biológicas mencionadas podem ser determinantes para se compreender a reatividade e a função destas moléculas.¹³⁵

Para algumas substâncias (como por exemplo, poliéteres ionóforos, éteres coroa, etc.), os íons predominantes no espectro de massas são resultantes da coordenação com cátions metálicos (principalmente Na⁺ e K⁺)¹³⁶ ou, em alguns casos, com ânions (geralmente Cl⁻).¹³⁷

Escalas de afinidade para o íon sódio têm sido propostas com o intuito de compreender quais fatores estruturais e energéticos são determinantes para a formação dos complexos com este metal em relação à formação de moléculas protonadas.¹³⁸ Mais uma vez os cálculos computacionais baseados na teoria de orbitais moleculares são de grande importância, uma vez que a energia das ligações,¹³⁸ a estabilidade dos complexos^{139,140} e os sítios de complexação podem ser previstos.

Métodos semi-empíricos PM5 foram utilizados extensivamente nos estudos da estrutura e da estabilidade dos complexos de monensina A com íons metálicos em fase gasosa. Os estudos demonstraram que os complexos formados com Na⁺, K⁺ e Li⁺ são estáveis em proporção estequiométrica (1:1).¹³⁹

Embora os estudos de moléculas formadas pela coordenação de moléculas orgânicas com íons de metais alcalinos sejam mais abundantes na literatura, outras moléculas cationizadas também têm sido investigadas por espectrometria de massas, em combinação com métodos computacionais.¹⁴⁰ De modo geral, a cationização com outros íons metálicos, inclusive os de metais de transição, pode ser observada quando estes íons são adicionados à solução do analito. O

emprego da EM no estudo destas moléculas cationizadas têm sido facilitado pelos avanços nas técnicas brandas de ionização (principalmente IES-EM), que favorecem a formação destas espécies.

Os modelos computacionais empregados para estudo da estrutura e da estabilidade de moléculas cationizadas devem levar em conta a existência de funções de bases específicas para a descrição apropriada dos metais, sobretudo os metais de transição. A inclusão de efeitos relativísticos e a descrição satisfatória de orbitais d e f são importantes, contudo são geralmente de difícil implementação.^{141,142}

A estabilidade relativa de complexos entre lactonas e íons Cu⁺ foi investigada através da EM e métodos DFT (B3LYP/6-311+G(2df,2p)//B3LYP/6-311G(d,p)).¹⁴³ O sítio mais favorável de interação do íon Cu⁺ é o oxigênio carbonílico. Os valores da energia da ligação Cu⁺-lactona foram comparados aos valores de afinidade por próton. Os resultados obtidos demonstraram que a energia de ligação aumenta sistematicamente com o aumento do número de átomos de carbono da estrutura da lactona,¹⁴³ o que está em concordância com os dados descritos por Bouchoux.¹²⁷

A complexação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (*Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs*) (Figura 10) com íons Ag⁺ foi investigada por ESI-EM para se determinar a abundância relativa entre complexos monoméricos e diméricos.¹⁴⁴ Neste estudo, o método B3LYP/LANL2DZ e a análise de decomposição de cargas (*Charge Decomposition Analysis, CDA*) foram utilizados para identificar o sítio preferencial para a complexação. Em alguns casos, os resultados demonstraram que duas moléculas de PAHs se complexam com um íon Ag⁺, formando uma estrutura do tipo “sanduíche”.

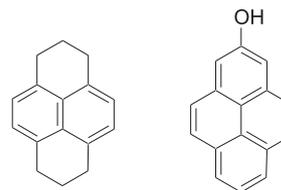


Figura 10. Estrutura dos PAHs complexados com Ag⁺, estudados por ESI-EM e por métodos DFT

As estabilidades de complexos entre acetamidas e Cu²⁺, Ca²⁺, Mg²⁺ e Ni²⁺, bem como suas energias de ionização e energéticas de fragmentação foram elucidadas, com base em cálculos DFT. Os resultados fornecidos por estes métodos estão em concordância com os dados de EM, possibilitando inclusive que tais complexos possam ser caracterizados por EM/EM diretamente em suas matrizes biológicas.¹⁴⁵

Formação de cátions e ânions radicais

Embora a ionização por elétrons (EI-EM) possibilite a formação de íons M⁺, a fragmentação dos mesmos devido ao conteúdo elevado de energia que é transferido durante o impacto com o feixe de elétrons ionizantes dificulta os estudos destes íons radicais por EM. Este fato tem impulsionado a obtenção destes íons em fontes de ionização branda, principalmente a ionização por *electrospray*.^{60,61}

PAHs têm sido extensivamente investigados devido ao seu reconhecido potencial tóxico, carcinogênico e mutagênico.¹⁴⁶ Nos últimos anos, os estudos sobre esta classe de compostos por EM foram impulsionados pela formação de cátions radicais (M^{•+}) em fontes de ionização por *electrospray*.¹⁴⁷ A formação destes íons ocorre principalmente com moléculas que exibem conjugações estendidas, cujos potenciais de oxidação são baixos ($E_{\text{ox}} < 1,0 \text{ V vs ECS}$).¹⁴⁷ Neste contexto, a correlação entre a afinidade prótonica

(AP), a energia de ionização (EI) e a disposição do HOMO na molécula pode auxiliar a interpretação dos resultados experimentais obtidos de hidrocarbonetos polinsaturados (polienos) por EM.⁶¹

Pointet e colaboradores estudaram a afinidade por próton de uma série de PAHs empregando espectrometria de massas com ionização química (CI-EM) e modelos semi-empíricos, DFTs e *ab initio*.¹⁴⁸ Os autores relatam que a diferença entre os valores experimentais da afinidade por próton e os valores obtidos por cálculos computacionais é menor quando se utiliza o método AM1 ($\Delta AP = 0,3 \text{ kcal mol}^{-1}$) que quando se emprega o método B3LYP/6-311+G(d,p) ($\Delta AP = 4,7 \text{ kcal mol}^{-1}$), embora o método MP2/6-31G(d) ($\Delta AP = -0,3 \text{ kcal mol}^{-1}$) também tenha fornecido resultados satisfatórios.

Estudos revelaram que em uma fonte IES, alguns PAHs apresentam uma tendência à protonação maior que a remoção de um elétron. Para explorar o balanço entre a formação dos íons $[M+H]^+$ e M^+ , Guaratini e colaboradores utilizaram o método AM1 para o cálculo da afinidade por próton e energia de ionização de uma série de polienos naturais, tais como β -caroteno, retinol e retinal.⁶⁰ Os autores concluíram que para as moléculas com maior afinidade por próton e alta energia de ionização (acima de 10 eV), a formação de moléculas protonadas predomina sobre a de íons radicais.

A formação de ânions radicais (M^{\bullet}) de compostos quinonóides em fonte de ionização por IES foi investigada por Reed em combinação com métodos DFT e *ab initio*.¹⁴⁹ As afinidades eletrônicas, as energias de dissociação e as afinidades protônicas destes compostos foram obtidas e comparadas com os dados experimentais. Os resultados obtidos revelaram que o método B3LYP/6-311+G(3df,2p) apresentou o menor erro em relação aos valores experimentais das afinidades eletrônicas de *orto*, *meta* e *para*-deidrofenois, gerados a partir de sistemas quinonóides (Figura 11). Entretanto, para cálculo das energias de dissociação, os resultados mais próximos dos experimentais foram obtidos pelo método G2(MP2).

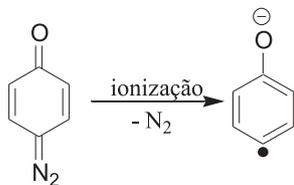


Figura 11. Formação do ânion radical fenoxi por espectrometria de massas

A formação de íons distônicos origina-se formalmente da ionização de biradicais ou de compostos zwitteriônicos.¹⁵⁰ Tomazela e colaboradores empregaram o método B3LYP com o conjunto de funções de base 6-311+G(d,p) para investigar a formação de um conjunto de diferentes íons radicais, propondo a formação dos diferentes íons distonóides, com base na análise das cargas e na densidade de spin.¹⁵¹ A otimização da geometria, a energética e a formação de íons distônicos fosfalílicos também foram investigadas empregando-se o método B3LYP/6-311G(d,p).¹⁵² Em ambos os casos, o emprego da química quântica computacional possibilitou aos pesquisadores compreender a formação e estabilidade desses íons radicais não clássicos.

Mecanismo de fragmentação

A importância da utilização de métodos computacionais combinados à espectrometria de massas pode ser exemplificada por alguns estudos de fragmentação recentemente publicados. Nestes estudos, modelos teóricos foram utilizados na determinação da estrutura e da energia do íon precursor, dos estados de transição e íons fragmentos.

Cálculos químicos quânticos foram utilizados em estudos da fragmentação de diésteres diterpenos alcalóides (DDA), com o intuito de se analisar a estabilidade dos íons fragmentos propostos, formados nas análises por ESI-Em.¹⁵³ A eliminação dos substituintes foi analisada em termos da carga do átomo de carbono onde este se encontrava ligado, bem como na energia de dissociação da ligação entre o substituinte e o referido carbono. Através das energias relativas destes íons obtidas por HF/6-31G(d), comparou-se a energética da eliminação dos seguintes substituintes: carboxila, benzila, etila e metila, estabelecendo-se a influência do grupo hidroxila do carbono 3 na fragmentação (Figura 12). Embora os resultados obtidos pelos cálculos teóricos estejam em concordância com os dados experimentais, a utilização de modelos teóricos mais sofisticados permitiria traçar um perfil mais qualitativo das eliminações sugeridas. Outro ponto que não foi explorado no referido trabalho é o sítio de protonação. Apesar da protonação geralmente ocorrer no nitrogênio, há casos em que a protonação ocorre em outros átomos. Crotti e colaboradores investigaram a fragmentação de γ -lactonas e de uma γ -lactama (Figura 13) empregando uma combinação de dados experimentais, obtidos por IES-CID-EM/EM, e aqueles obtidos pelo modelo CBS-Q.¹²⁸ Com base nestes dados, os autores estabeleceram que a protonação destas substâncias ocorre inicialmente no oxigênio da carbonila. Porém, sugerem que após a colisão com o gás inerte, o próton migra para o átomo adjacente (oxigênio, no caso de lactonas, ou nitrogênio, no caso da lactama), resultando na abertura do anel de cinco membros. Estes dados estão de acordo com aqueles previamente publicados por Bouchox,¹²⁷ que comparou os resultados obtidos pelo método MP2/6-31G(d) para as moléculas neutras e para as respectivas moléculas protonadas nos vários sítios possíveis. O autor estabeleceu que o anel lactônico é rompido quando o próton está localizado no oxigênio do éster. A partir das energias relativas dos íons fragmentos, Crotti e colaboradores estabeleceram que a tendência para a perda de H_2O/NH_3 a partir da molécula protonada pode ser interpretada em termos da formação do íon fragmento mais estável.

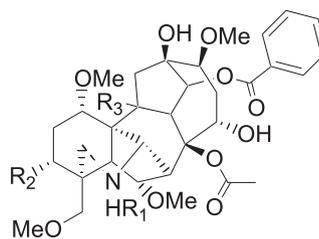


Figura 12. Estrutura DDA. O grupo R_1 pode ser um radical alquílico ou benzílico

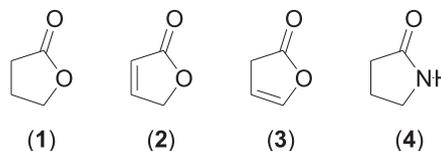


Figura 13. Estrutura de algumas γ -lactamas e das γ -lactonas investigadas por Crotti e colaboradores

Outra aplicação muito útil dos cálculos teóricos diz respeito à predição da energia relativa de íons isoméricos. Conforme mencionado anteriormente nesta revisão, é possível utilizar as energias relativas, com base no Postulado de Hammond⁹⁵ e no princípio de que íons estáveis apresentam pouca tendência a se fragmentarem, para se identificar a estrutura do íon mais abundante dentre várias estruturas isoméricas propostas. Para íons de fórmula molecular

$C_4H_3O^+$, por exemplo, quatro estruturas foram propostas na literatura (Figura 14).³ A ordem de estabilidade obtida para esses íons (I < II < III < IV) revela a facilidade com que os mesmos são formados e, conseqüentemente, fornece uma análise qualitativa da contribuição de cada um destes na formação em experimentos de EM.³

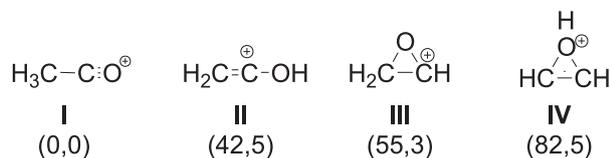


Figura 14. Energias relativas (em kcal mol⁻¹) calculadas pelo modelo químico G2 para os íons isoméricos do cátion $C_4H_3O^+$

Estudos realizados com derivados quinonóides (Figura 15) empregando-se ESI-EM/EM revelaram que a presença de um substituinte em C- α está diretamente associada ao padrão de fragmentação. O fato da 2-benzilamina-1,4-naftoquinona não possuir hidrogênios α -carbonílicos torna diferente a fragmentação da molécula protonada correspondente em relação à dos demais derivados.⁹⁴ O sítio de protonação foi sugerido com base nos índices nucleofílicos atômicos, obtidos pelos descritores quânticos calculados pelo método semi-empírico PM3. Os derivados que possuem os hidrogênios α -carbonílicos apresentaram os mesmos fragmentos, com m/z 174, 146 (provenientes do anel quinonóide) e o íon resultante da cadeia lateral (conseqüência da migração do par de elétrons do O e rompimento da ligação amida, após a protonação no átomo de N). Três mecanismos de fragmentação foram propostos para a formação desses íons, porém a via mais provável de fragmentação foi elucidada com base na estabilidade relativa do íon m/z 146, o menos intenso no espectro IES-MS/MS. As energias relativas entre esses íons fragmentos foram calculadas pelo modelo MP2/6-311G(d,p) e via de fragmentação elucidada com base nos resultados teóricos.⁹⁴

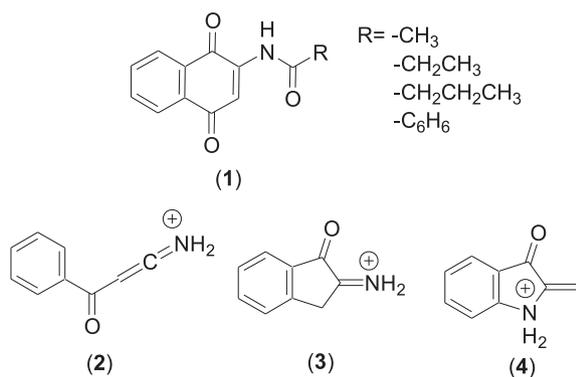


Figura 15. (1) 2-acilamina-1,4-naftoquinona, o R indica a cadeia lateral. Os três possíveis isômeros de m/z 146 sugeridos para o mecanismo de fragmentação das 1,4-naftoquinonas, em ordem de energia: (2)>(3)>(4). O íon (3) apresentava uma frequência negativa o que o caracterizava como estado de transição

Em um trabalho recente os aspectos cinéticos e termodinâmicos da fragmentação de α -aminoácidos foram estudados empregando-se a ionização química (CI-EM).¹⁵⁴ O estudo foi primeiramente realizado com o uso da ativação colisional (CID) para se promover a fragmentação dos α -aminoácidos protonados, em combinação com os métodos MP2 e G3 para se obter o perfil da superfície de energia potencial. Com base neste perfil, os autores propuseram o

mecanismo para a eliminação de moléculas pequenas, como por exemplo, CO e H₂O. No mesmo estudo, o tempo de vida de cada íon intermediário foi investigado por MIKE (*Mass-analyzed Ion Kinetic Energy*), em combinação com estudos de dinâmica molecular. Assim, se chegou à compreensão do mecanismo de fragmentação destes aminoácidos, embasado na cinética de formação e termodinâmica de fragmentação dos íons.

Reações íon-molécula

As vantagens em se aplicar métodos químico-quânticos em combinação com os dados obtidos por EM podem ser estendidas aos estudos dos mecanismos de reações íon-molécula de adição e/ou substituição em fase gasosa. Estas reações são de grande interesse para a síntese de novos compostos em fase gasosa.¹⁵⁵ No estudo destas reações, o cálculo da superfície de energia potencial é de grande importância, para se estimar a energia dos possíveis caminhos de reação.

O modelo B3LYP/6-311++G(d,p) foi utilizado no estudo dos mecanismos das reações de epóxidos e tioepóxidos com íons fosfônio (Reação de Meurewein).¹⁵⁶ Neste estudo, a superfície de energia potencial e a energia dos intermediários de reação em fase gasosa foram calculadas e os estados de transição caracterizados pela frequência vibracional negativa. Os dados teóricos demonstraram que a reação de $\text{CH}_3\text{P}(\text{O})\text{OCH}_3^+$ com epóxidos e tioepóxidos é exotérmica, o que corrobora os resultados obtidos experimentalmente por EM.

Girolodo e colaboradores estudaram as reações de substituição nucleofílica em fase gasosa entre íons fluoreto e nitrobenzeno.¹⁵⁷ Os autores propuseram a energética da reação embasados no cálculo da superfície de energia potencial, obtida pelo modelo B3LYP/6-311++G(d,p). As estruturas de vários íons intermediários foram otimizadas e as estruturas de possíveis estados de transição foram propostas. A variação da entalpia para a reação foi estimada a 298 K, sendo que o valor teórico obtido está em concordância com o valor experimental.

Reações de cicloadições polares de íons imônios e nitrílios foram investigadas por Eberlin e colaboradores.¹⁵⁸ Os autores verificaram o efeito dos substituintes nas energias dos orbitais de fronteira e correlacionaram este efeito às intensidades relativas dos íons observados no espectro de massas. A entalpia de formação dos compostos e a energia dos orbitais de fronteira foram estimadas pelo método semi-empírico AM1, assim como suas afinidades prótonicas.

CONCLUSÕES

Com o advento dos métodos de ionização “brandos”, a EM vem sendo utilizada na análise de compostos orgânicos em diversas áreas da ciência, principalmente Química, Biologia e Farmácia. No entanto, o potencial desta técnica para fins de elucidação estrutural e para estudo de processos de ionização, das reações de fragmentação e das reações íon-molécula em fase gasosa não foi totalmente explorado. Este fato se deve às interpretações equivocadas e especulativas acerca dos mecanismos pelos quais estes processos ocorrem. Neste contexto, os cálculos baseados na teoria de orbitais moleculares surgem como uma técnica muito útil para a compreensão de tais mecanismos, conforme abordado neste artigo de revisão. Os autores acreditam que os estudos em que a EM e a química computacional são utilizadas em combinação devem ser estimulados, uma vez que esta combinação não apenas fornece o embasamento teórico necessário para as interpretações dos dados obtidos por EM, como também impulsiona diretamente o desenvolvimento de novos métodos e modelos computacionais. Entre-

tanto, esta abordagem “sinérgica” requer uma escolha criteriosa do modelo computacional mais adequado para cada caso, de modo que os resultados teóricos possam ser confiáveis.

AGRADECIMENTOS

Às agências de fomento FAPESP, CAPES e CNPq pelo auxílio financeiro. R. Vesecchi agradece à FAPESP pela bolsa de doutorado (Processo 05/01572-1), P. G. B. D. Nascimento agradece ao CNPq pelo auxílio financeiro (Processo 310149/2006-1) e S. E. Galembeck agradece ao CNPq pela bolsa de produtividade em pesquisa (Processo 452292/2005-0).

REFERÊNCIAS

- Thompson, S. E.; Parthasarathy, S.; *Materials Today*. **2006**, *9*, 20; Sealy, C.; *Nano Today* **2006**, *1*, 20.
- Schlegel, H. B. Em *New Theoretical Concepts for Understanding Organic Chemistry Reactions*; Bertrán, J., ed.; Kluwer Academic Pubs: Netherlands, 1989, p. 33-35.
- Random, L.; *Organic Mass Spectrom.* **1991**, *26*, 359.
- Alcami, M.; M6, O.; Yañez, M.; *Mass Spectrom. Rev.* **2001**, *20*, 195.
- Bagno, A.; *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 523; Bagno, A.; Scorrano, G.; *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 609.
- NIST – National Institute of Standards and Technology); <http://webbook.nist.gov/chemistry>, acessada em Junho 2007.
- Hernández-Laguna, A.; Abboud, J. L. M.; Notário, R.; Homan, H.; Smeyers, Y. G.; *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 1450.
- Nguyen, V. Q.; Turecek, F.; *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2280.
- Bagno, A.; *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 523.
- Silverstein, R. Em *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*; Silverstein, R.; Bassler, G. C.; Morrill, T. C., eds.; Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 5ª ed., 1994.
- Polasek, J.; Queiroz, E. F.; Hostettmann, K.; *Phytochem. Anal.* **2007**, *18*, 13.
- Eberlin, M. N.; *J. Mass Spectrom.* **2006**, *41*, 141.
- Crotti, A. E. M.; Vesecchi, R.; Lopes, J. L. C.; Lopes, N. P.; *Quim. Nova* **2006**, *29*, 287.
- Sukhodub, L. F.; *Mass Spectrom. Rev.* **1995**, *14*, 235; Schiebel, H. M.; Schulten H.; *Mass Spectrom. Rev.* **1986**, *5*, 249.
- Vestal, M. L.; *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 361.
- Winkler, H. U.; Beckey, H. D.; *Organic Mass Spectrom.* **1972**, *6*, 655; Winkler, H. U.; Beckey, H. D.; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1972**, *46*, 391.
- Barber, M.; Bordoli, R. S.; Sedgwick, R. D. Em *Soft Ionization Biological Mass Spectrometry*; Morris, H. R., ed.; Heyden: London, 1981, p. 137.
- Benningh, A.; *Surf. Sci.* **1971**, *28*, 541.
- Yamashita, M.; Fenn, J. B.; *J. Phys. Chem.* **1984**, *88*, 4451.
- Karas, M.; Bachmann, D.; Bahr, U.; Hillenkamp, F.; *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **1987**, *78*, 53.
- Futrell, J. H.; *Int. J. Mass Spectrom.* **2000**, *200*, 495.
- Tozuka, Z.; Kaneko, H.; Shiraga, T.; Mitani, Y.; Beppu, M.; Terashita, S.; Kawamura, A.; Kagayama, A.; *J. Mass Spectrom.* **2003**, *38*, 793.
- He, X. G.; *J. Chromatogr., A* **2000**, *880*, 203.
- Sleno, L.; Volmer, D. A.; *J. Mass Spectrom.* **2004**, *39*, 1091.
- McLuckey, S. A.; *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1992**, *3*, 599.
- Levsen, K.; *Fundamental Aspects of Organic Mass Spectrometry*, Verlag Chemie: Weinheim, 1978; p. 138 (collision process), p. 92 (energy dependence of CID products).
- Marquet, P.; Venisse, N.; Lacassie, E.; Lachâtre, G.; *Analisis* **2000**, *28*, 925.
- Smith, K. M.; *Understanding mass spectra - a basic approach*, 2nd ed., Wiley-Interscience 2004, p. 111.
- McLafferty, F. W.; Turecek, F.; *Interpretation of Mass Spectra*, 4th ed., University Science Books: Mill Valley, CA, 1993, p. 117.
- Senko, M. W.; Speir, J. P.; McLafferty, W.; *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 2801.
- Takashima, K.; Riveros, J. M.; *Mass Spectrom. Rev.* **1998**, *17*, 409.
- Ervin, K.; *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 391.
- Furtado, N. A. J. C.; Vesecchi, R.; Tomaz, J. C.; Galembeck, S. E.; Bastos, J. K.; Lopes, N. P.; Crotti, A. E. M.; *J. Mass Spectrom.* **2007**, *42*, 1279.
- Taft, R.; *Prog. Phys. Org. Chem.* **1983**, *14*, 247.
- Brauman, J. I.; Blair, L. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 3911; Brauman, J. I.; Riveros, J. M.; Blair, L. K.; *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 3914.
- Brauman, J. I.; Blair, L. K.; *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 4315.
- Sykes, P.; *A Guidebook to Mechanism in Organic Chemistry*, 1985, 6th ed., Longman Scientific and Technical: New York.
- Gonzalez, C.; Schlegel, H. B.; *J. Chem. Phys.* **1989**, *90*, 1154.
- Nobes, R. H.; Random, L.; *Org. Mass Spectrom.* **1986**, *21*, 407.
- Hase, W. L.; Koch, W.; *Int. J. Mass Spectrom.* **2000**, 201.
- Cacace, F.; *Pure Appl. Chem.* **1997**, *69*, 227.
- Ryde, U.; Hsiao, Y. W.; Rulisek, L.; Solomon, E. I.; *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 726.
- Zhong, G.; Chan, B.; Radom, L.; *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 924.
- Bowers, M. T.; *Gas phase Ion Chemistry*, Academic Press: London, 1979, vol. 2.
- Robertson, R. E.; *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1979**, *17*, 213; Chagas, A. P.; *Quim. Nova.* **1980**, *3*, 107.
- Cooks, R. G.; Wong, P. H.; *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 379.
- Armentrout, P.; *J. Mass Spectrom.* **1999**, *34*, 74.
- Cooks, R. G.; Patrick, J. S.; Katiago, T.; McLuckey, S. A.; *Mass Spectrom. Rev.* **1994**, *13*, 287.
- Ochterski, J. W.; Petersson, G. A.; Montgomery-Jr, J. A.; *J. Chem. Phys.* **1996**, *104*, 2598.
- Burk, P.; Koppel, I. A.; Koppel, I.; Leito, I.; Travnikova, O.; *Chem. Phys. Lett.* **2000**, *323*, 482.
- Que, D. H.; Guidoni, M.; Betowski, L. D.; *Int. J. Mass Spectrom.* **2000**, *201*, 238.
- Stewart, R.; *The proton: Application to Organic Chemistry*, Academic Press: Orlando, 1985.
- Ranges, R.; Riccardi, D.; Cui, Q.; Elstner, M.; York, D. M.; *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2005**, *7*, 3070.
- Ventura, O. N.; Segovia, M.; *Chem. Phys. Lett.* **2005**, *403*, 378.
- Van Alem, K.; Sudhölter, E. J. R.; Zuilhof, H.; *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 10860.
- Hohlneicher, G.; Packschies, L.; Weber, J.; *Chem Phys. Chem.* **2005**, *6*, 2451.
- Denis, P. A.; Ventura, O. N.; Le, H. T.; Nguyen, M. T.; *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2003**, *5*, 1730.
- Foresman, J. B.; Frisch, A.; *Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods*, Gaussian Inc.: Pittsburg, 1993, p. 181-187.
- Deakayne, C. A.; *Int. J. Mass Spectrom.* **2003**, *227*, 601.
- Guarati, T.; Vesecchi, R.; Pinto, E.; Colepicolo, P.; Lopes, N. P.; *J. Mass Spectrom.* **2005**, *40*, 963; VanBerkel, G. J.; *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 1586.
- Vesecchi, R.; Crotti, A. E. M.; Guarati, T.; Colepicolo, P.; Galembeck, S. E.; Lopes, N. P.; *Mini-Rev. Org. Chem.* **2007**, *4*, 75.
- Vanbreemen, R. B.; *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 2004.
- Bard, A. J.; *Adv. Phys. Organic Chem.* **1976**, *12*, 1.
- <http://goldbook.iupac.org/>, acessada em Maio 2007.
- Orzechowski, L.; Jansen, G.; Harder, S.; *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14676; Morley, J. O.; Matthews, T. P.; *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 8099.
- Fukui, K.; *The Role of Frontier Orbitals in Chemical Reactions– Nobel Lecture*, 1981; http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1981/fukui-lecture.pdf, acessada em Maio 2007.
- Parr, R.; Yang, W.; *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 4049.
- Galembeck, S. E.; Caramori, G. F.; *Quim. Nova.* **2003**, *26*, 957; Clark, L. A.; Ellis, D. E.; Snurr, R. Q.; *J. Chem. Phys.* **2001**, *114*, 2580; Fuentelba, P.; Chamorro, E.; Cardenas, C.; *Int. J. Quantum Chem.* **2007**, *107*, 37.
- Rios-Escuderos, A.; Costamagna, J.; Cárdenas-Jirón, G. I.; *J. Chem. Phys. A* **2004**, *108*, 7253; Yang, W.; Mortier, W.; *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 5708.
- Contreras, R. R.; Fuentelba, P.; Galván, M.; Pérez, P.; *Chem. Phys. Lett.* **1999**, *304*, 405; Parr, R. G.; Yang, W.; *Density Functional Theory of Atoms and Molecules*, The International Series of Monographs on Chemistry, Oxford Science Publications: Oxford, 1989.
- Chermette, H.; *J. Comput. Chem.* **1999**, *20*, 129; Duarte, H. A.; *Quim. Nova* **2001**, *24*, 501.
- Gal, J. F.; Maria, P. C.; Raczynska, E. D.; *J. Mass Spectrom.* **2000**, *36*, 699.
- Carey, F.; *Organic Chemistry*, 4th ed., McGraw Hill: New York, 2000, p. 779.
- Ma, Y.; Liu, W.; Zhao, Y.; *Int. J. Mass Spectrom.* **2006**, *248*, 17.
- Jorgensen, T. J. D.; Bache, N.; Roepstorff, P.; Gardsvoll, H.; Ploug, M.; *Mol. Cell. Proteomics* **2005**, *4*, 1910; Bulleigh, K.; Howard, A.; Do, T.; Wu, Q.; Anbalagan, V.; Van Stipdonk, M.; *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2006**, *20*, 227.
- Cassamchena, P.; Chandler, G. S.; *Int. J. Quantum Chem.* **1993**, *46*, 593; Nobes, R. H.; Pople, J. A.; Random, L.; Handy, N. C.; Knowles, P. J.; *Chem. Phys. Lett.* **1987**, *138*, 481.
- Chuang, Y. Y.; Coitito, E. L.; Truhlar, D. G.; *J. Phys. Chem. A* **2000**, *104*, 446; Baker, J.; Scheiner, A.; Andzelm, J.; *Chem. Phys. Lett.* **1993**, *216*, 380.
- Hehre, W. J.; Random, L.; Schleyer, P. R.; Pople, J. A.; *Ab initio molecular orbital theory*, John Wiley & Sons New York, 1986.
- Moller, C.; Plesset, M. S.; *Phys. Rev.* **1934**, *46*, 618.
- Johnson, B. G.; Gill, P. M. W.; Pople, J. A.; *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 5612.

81. Curtiss, L. A.; Raghavachari, K.; Trucks, G. W.; Pople, J. A.; *J. Chem. Phys.* **1991**, *94*, 7221.
82. Handy, N. C.; Knowles, P. J.; Somasundram, K.; *Theor. Chim. Acta* **1985**, *68*, 87.
83. Morgon, N. H.; Custodio, R.; *Quim. Nova* **1995**, *18*, 44.
84. <http://srdata.nist.gov/cccbdb/>, acessada em Junho 2007
85. Scott, A. P.; Random, L.; *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 16502.
86. Kassae, M. H.; Keffer, D. J.; Steele, W. V.; *Theochem* **2007**, *802*, 23.
87. Raghavachari, K.; Pople, J. A.; Replogle, E. S.; Head-Gordon, M.; *J. Phys. Chem.* **1990**, *94*, 5579.
88. Halls, M. D.; Schlegel, H. B.; *J. Chem. Phys.* **1998**, *109*, 9525.
89. Stephens, P. J.; Devlin, E. J.; Chabalowski, C. F.; Frisch, M. L.; *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 11623.
90. Wong, M. W.; *Chem. Phys. Lett.* **1996**, *256*, 391.
91. Benidar, A.; Le Doucen, R.; Guillemin, J. C.; M6, O.; Yáñez, M.; *J. Mol. Spectrosc.* **2001**, *205*, 252.
92. Bing, D.; Zhao, Y. F.; Hao, F. Y.; Li, X. Y.; Liu, F. L.; Zhang, G. H.; Zhang, P. X.; *Int. J. Quantum Chem.* **2007**, *107*, 1085.
93. Mora, J. R.; Loron, M.; Cordova, T.; Chuchani, G. J.; *Phys. Org. Chem.* **2006**, *19*, 503.
94. Vessecchi, R.; Nascimento, P. G. B. D.; Lopes, J. N. C.; Lopes, N. P.; *J. Mass Spectrom.* **2006**, *41*, 1219.
95. Hammond, G. S.; *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 334.
96. Gabélica, V.; De Pauw, E.; *Mass Spectrom. Rev.* **2005**, *24*, 566.
97. Hammes, G. G.; *Principles of Chemical Kinetics*, Academic Press: New York, 1966, Chapter 4, p. 89-106.
98. Gonzalez, C.; Schlegel, J.; *Phys. Chem.* **1989**, *90*, 2154.
99. Simons, J.; *J. Phys. Chem.* **1991**, *95*, 1017.
100. Morgon, N.; Custodio, R.; *Quim. Nova* **1995**, *18*, 44; Baerends, E. J.; Gritsenko, O. V.; *J. Phys. Chem. A* **1997**, *101*, 5383; Kryachko, E. S.; Ludena, E. V.; *Energy Density Functional Theory of Many-Electrons Systems*, Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, 1990, Capítulo 1.
101. Pople, J. A. *Em Energy, Structure and Reactivity*; Smith, D. W.; McRae, W. B., eds.; Wiley: New York, 1973, p. 51; Pople, J. A.; Binkley, J. S.; Seeger, R.; *Int. J. Quantum Chem. Symp.* **1976**, *10*, 1.
102. Ochterski, J. W.; Peterson, G. A.; Montgomery-Jr, J. A.; *J. Chem. Phys.* **1996**, *104*, 2598.
103. Curtiss, L. A.; Raghavachari, K.; *Theor. Chem. Acc.* **2002**, *108*, 61; Curtiss, L. A.; Raghavachari, K.; Redfem, P. C.; Pople, J. A.; *J. Chem. Phys.* **2000**, *112*, 7374.
104. Martin, J. M. L.; de Oliveira, G.; *J. Chem. Phys.* **1999**, *111*, 1843.
105. Fast, P. L.; Corchado, J.; Sanchez, M. L.; Truhlar, D. G.; *J. Phys. Chem. A* **1999**, *103*, 3139; Zhao, Y.; Benjamin, J. L.; Truhlar, D. G.; *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 4786.
106. Morgon, N. H.; *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 2050; Morgon, N. H.; Riveros, J. M.; *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 10399; Morgon, M. N.; *Int. J. Quantum Chem.* **2006**, *106*, 2658.
107. Baboul, A. G.; Curtiss, L. A.; Redfem, P. C.; Raghavachari, K.; *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 7650.
108. Petersson, G. A.; Bennett, A.; Tensfeldt, T. G.; Al-Laham, M. A.; Mantzaris, S.; Mantzaris, J.; *J. Chem. Phys.* **1988**, *89*, 2193.
109. Curtiss, L. A.; Raghavachari, K.; Redfem, P. C.; Pople, J. A.; *J. Chem. Phys.* **1997**, *106*, 1063; Riggs, N. V.; Radom, L.; *Int. J. Quantum Chem.* **1987**, *31*, 393.
110. Petersson, G. A.; Al-Laham, M. A.; *J. Chem. Phys.* **1991**, *94*, 6081.
111. Hammerun, S.; *Chem. Phys. Lett.* **1999**, *121*, 529.
112. Hammerun, S.; Solling, T. I.; *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 6002.
113. Wiberg, K. B.; Ochterski, J. W.; *J. Comput. Chem.* **1997**, *18*, 108.
114. Smith, B. J.; Random, L.; *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 6468.
115. Becke, A. D.; *J. Phys. Chem.* **1993**, *98*, 5648.
116. Gabélica, V.; De Pauw, E.; *Mass Spectrom. Rev.* **2005**, *24*, 566.
117. Mulliken, R. S.; *J. Chem. Phys.* **1955**, *23*, 1833.
118. Reed, A. E.; Curtiss, L. A.; Weinhold, F.; *Chem. Rev.* **1988**, *88*, 899.
119. Bader, R. F. W.; *Chem. Rev.* **1991**, *91*, 893.
120. Chaudry, U. A.; Popelier, P. L. A.; *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 233.
121. Grana, A. M.; Hermida-Ramon, J. M.; Mosquera, R. A.; *Chem. Phys. Lett.* **2005**, *412*, 106.
122. Rozas, I.; Alkorta, I.; Elguero, J.; *J. Phys. Chem. A* **2006**, *100*, 13310.
123. Davalos, J. Z.; Herrero, R.; Quintanilla, E.; Jimenez, P.; Gal, J. F.; Maria, P. C.; Abboud, J. M. L.; *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 5505.
124. Graton, J.; Berthelot, M.; Gal, J. F.; Girard, S.; Laurence, C.; Lebreton, J.; Le Questel, J. Y.; Maria, P. C.; Naus, P.; *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10552.
125. Graton, J.; Berthelot, M.; Gal, J. F.; Laurence, C.; Lebreton, J.; Le Questel, J. Y.; Maria, P. C.; Richard, R.; *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 8208.
126. Koné, M.; Illien, B.; Laurence, C.; Gal, J. F.; Maria, P. C.; *J. Phys. Org. Chem.* **2006**, *19*, 104.
127. Bouchoux, G.; Leblanch, D.; M6, O.; Yanez, M.; *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 8439.
128. Crotti, A. E. M.; Fonseca, T.; Hong, H.; Stauton, J.; Galembeck, S. E.; Lopes, N. P.; Gates, P. J.; *Int. J. Mass Spectrom.* **2004**, *203*, 271.
129. Gronert, S.; Feng, W. Y.; Chew, F.; Wu, W.; *Int. J. Mass Spectrom.* **2000**, *195/196*, 251.
130. Bartmes, J. E.; Pittman, J. L.; Aeschleman, J. A.; Deakyne, C. A.; *Int. J. Mass Spectrom.* **2000**, *195/196*, 215.
131. Broadus, K. M.; Kass, S. R.; *Int. J. Mass Spectrom.* **1999**, *185/186/187*, 179.
132. O'Hair, R. A. J.; Blanksby, S.; Styles, M.; Bowie, J. H.; *Int. J. Mass Spectrom.* **1999**, *182/183*, 203.
133. Boys, B. L.; Konermann, L.; *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2007**, *18*, 8.
134. Schafer, M.; Schmuck, C.; Geiger, L.; Hendrickson, C. L.; Lmarsh, A. G.; *Int. J. Mass Spectrom.* **2004**, *237*, 33.
135. Lehmann, W. D.; Wei, J. H.; Hung C. W.; Gabius, H. J.; Kirsch, D.; Spengler, B.; Kubler, D.; *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2006**, *20*, 2404.
136. Lopes, N. P.; Stark, C. B. W.; Hong, H.; Gates, P. J.; Staunton, J. Z.; *Analyst* **2001**, *126*, 1630.
137. Zhu, J.; Cole, R. B. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2000**, *11*, 932.
138. Petrie, S.; *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 9931.
139. Huczynski, A.; Przybylski, P.; Brzezinski, B.; *J. Mol. Struct.* **2006**, *788*, 176; Huczynski, A.; Przybylski, P.; Brzezinski, B.; Bartl, F.; *Biopolymers* **2006**, *81*, 282.
140. Mishima, M.; Maeda, H.; Than, S.; Irie, M.; Kikukawa, K.; *J. Phys. Org. Chem.* **2006**, *19*, 616.
141. Custodio, R.; Davis, W. M.; Goddard, J. D.; *J. Mol. Struct.-Theochem.* **1994**, *121*, 163.
142. Gomes, A. S. P.; Custodio, R.; Visscher, L.; *Theor. Chem. Acc.* **2006**, *115*, 398.
143. Essefar, M.; M6, O.; Yanez, M.; *Mol. Phys.* **2003**, *101*, 1249.
144. Laali, K. K.; Hupertz, S.; Temu, A. G.; Galembeck, S. E.; *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 2319.
145. Shi, T.; Michael-Siu, K. W.; Hopkinson, A. C.; *Int. J. Mass Spectrom.* **2006**, *255/256*, 251.
146. Shen, J.; Gammon, M. D.; Terry, M. B.; Wang, L. W.; Wang, Q.; Zhang, F. F.; Teitelbaum, S. L.; Eng, S. M.; Sagiv, S. K.; Gaudet, M. M.; Neugut, A. I.; Santella, R. M.; *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* **2005**, *14*, 336.
147. Van Berkel, G. J.; Zhou, F.; *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 2916; De La Mora, J. F.; Van Berkel, G. J.; Enke, C. G.; Cole, R. B.; Martinez-Sanchez, M.; Fenn, J. B.; *J. Mass Spectrom.* **2000**, *35*, 939.
148. Pointet, K.; Milliet, A.; Hoyau, S.; RenouGonnord, M. F.; *J. Comput. Chem.* **1997**, *18*, 629.
149. Reed, D. R.; Hare, M. C.; Fattahi, A.; Chung, G.; Gordon, M. K.; Kass, S. R.; *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4643.
150. Yates, B. F.; Bouma, W. J.; Radom, L.; *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 5805.
151. Tomazela, D. M.; Sabino, A. A.; Sparran, R.; Gozzo, F. C.; Eberlin, M. N.; *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2006**, *17*, 1014.
152. Gozzo, F. C.; Moraes, L. A. B.; Eberlin, M. N.; Laali, K. K.; *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 7776.
153. Chen, L. H.; Jin, L. J.; Su, Z. M.; Qiu, Y. Q.; Wang, Y.; Liu, S. Y.; *Chemical Journal of Chinese Universities-Chinese* **2005**, *26*, 2340.
154. Sekiguchi, O.; Letzel, M. C.; Kuck, D.; Uggerud, E.; *Int. J. Mass Spectrom.* **2006**, *255/256*, 177.
155. Kryliouk, O.; Park, H. J.; Won, Y. S.; Anderson, T. Davydov, A.; Levin, I.; Kim, J. H.; Freitas, J. A. *Nanotechnology* **18**, Art. No. 135606, **2007**.
156. Meurer, E. C.; Chen, H.; Riter, L. S.; Cooks, R. G.; Eberlin, M. N.; *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2004**, *15*, 398.
157. Giroldo, T.; Xavier, L. A.; Riveros, J. M.; *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, *43*, 3588.
158. Eberlin, M. N.; Morgon, N. H.; Yang, S. S.; Shay, B. J.; Cooks, R. G.; *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1995**, *6*, 1.