

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA

ESPECTROMETRIA DE MASAS DE FILOCLADENO,
3-METILEN COLESTANO Y TETRAHIDRO
CAFEEST-17-ENO MARCADOS CON ^{13}C

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE
D O C T O R E N Q U I M I C A
P R E S E N T A E L Q U I M I C O
J. RAYMUNDO CRUZ ALMANZA

M E X I C O

1 9 7 6



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ESTA TESIS SE LLEVO A CABO BAJO LA DIRECCION

DEL DR. FEDERICO GARCIA JIMENEZ

EN EL INSTITUTO DE QUIMICA DE LA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

C O N T E N I D O

I. - INTRODUCCION

II. - ANTECEDENTES

A).- MARCAJE CON ^{13}C Y DISTRIBUCION AL AZAR.

B).- PROGRAMAS DE COMPUTO EN ESPECTROMETRIA DE MASAS.

III. - PARTE EXPERIMENTAL

A).- PREPARACION DE COMPUESTOS

B).- ANALISIS

IV. - RESULTADOS Y DISCUSION

A).- PROGRAMA DE COMPUTO MPC PARA EL CALCULO DEL % DE ^{13}C .

B).- ANALISIS DE LOS ESPECTROS DE MASAS.

V. - CONCLUSIONES

VI. - BIBLIOGRAFIA

I. - I N T R O D U C C I O N

Dentro del campo de la espectrometría de masas, una de las técnicas más importantes en la elaboración de patrones de fragmentación para moléculas orgánicas es sin duda el marcaje isotópico. Esta técnica ha sido de gran ayuda en muchos trabajos de investigación y ha adquirido tal importancia en la actualidad que se emplea en un 90% de dichos trabajos. De los isótopos empleados en esta técnica (D, ^{13}C , ^{18}O , y ^{15}N) el más utilizado es el deuterio,¹ el ^{13}C se emplea con menos frecuencia y el ^{15}N y ^{18}O solo en casos relativamente especiales.^{2,3} La razón de esto es que con excepción de los reactivos enriquecidos con deuterio los demás no son muy accesibles debido a su alto costo y además a la dificultad que presenta el hecho práctico de introducir un isótopo en un sitio determinado de la molécula que se va a estudiar. Sin embargo el uso de estos tres últimos isótopos presentan la ventaja de que el "efecto isotópico" es menor y por lo tanto los errores debidos a este efecto se pueden disminuir considerablemente.⁴

Por otra parte el uso de los métodos de cómputo en espectrometría de masas ha tenido un gran desarrollo por las grandes ventajas que presentan, ya que además de poder estudiar en mayor detalle el espectro de masas es posible conocer no solamente la fórmula molecular del compuesto (composición elemental del ión molecular) sino también la composición elemental de todos y cada uno de los fragmentos a partir de un so-

lo espectro de alta resolución. Este cúmulo de información es de considerable valor en la elucidación de los procesos de fragmentación de moléculas complejas. Así por ejemplo un espectro de masa de un compuesto determinado podría contener muchos fragmentos, para cada uno de los cuales los datos adquiridos por el sistema de computación daría una o más composiciones elementales, tal lista de composiciones elementales sería relativamente fácil de seleccionar para obtener información y usarla en un análisis estructural mediante los llamados mapas de composición elemental.⁵

Otra aplicación importante de las computadoras en espectrometría de masas es la de almacenar espectros en un banco de memoria. Con un gran número de espectros recopilados es posible identificar un compuesto determinado por su espectro de masas siempre y cuando se tenga almacenada la información correspondiente en la memoria del computador.⁵

En aplicaciones a un nivel un poco más complejo las computadoras se han estado utilizando para reconocer patrones de fragmentación. La computadora se programa para registrar o recolectar las patrones de fragmentación dados de espectros de baja resolución de una serie de compuestos conocidos. La información adquirida de esta manera se aplica después a compuestos desconocidos. Los patrones de fragmentación de los compuestos desconocidos serán clasificados por la computadora y de acuerdo con los datos previamente adquiridos les será asignada una estructura determinada. La computadora se puede ir actualizando y la pro-

babilidad de una asignación correcta aumentará en relación a los patrones de fragmentación que la computadora haya "aprendido".⁷

El objeto del presente trabajo es informar los resultados obtenidos en el estudio de las fragmentaciones de algunos hidrocarburos insaturados terpenoides como lo son: el filocladeno I, kaureno II, 3-metilen colestano III, y tetrahidrocafest-17-eno IV (fig. 1) marcados isotópicamente con ^{13}C y su análisis mediante un programa de cómputo con el fin de establecer las fragmentaciones características de cada uno de ellos, en función del porcentaje de ^{13}C contenido en algunos fragmentos importantes.

Adicionalmente estos resultados pueden servir para confirmar o refutar la participación de estas moléculas en procesos de distribución al azar de la marca.⁸

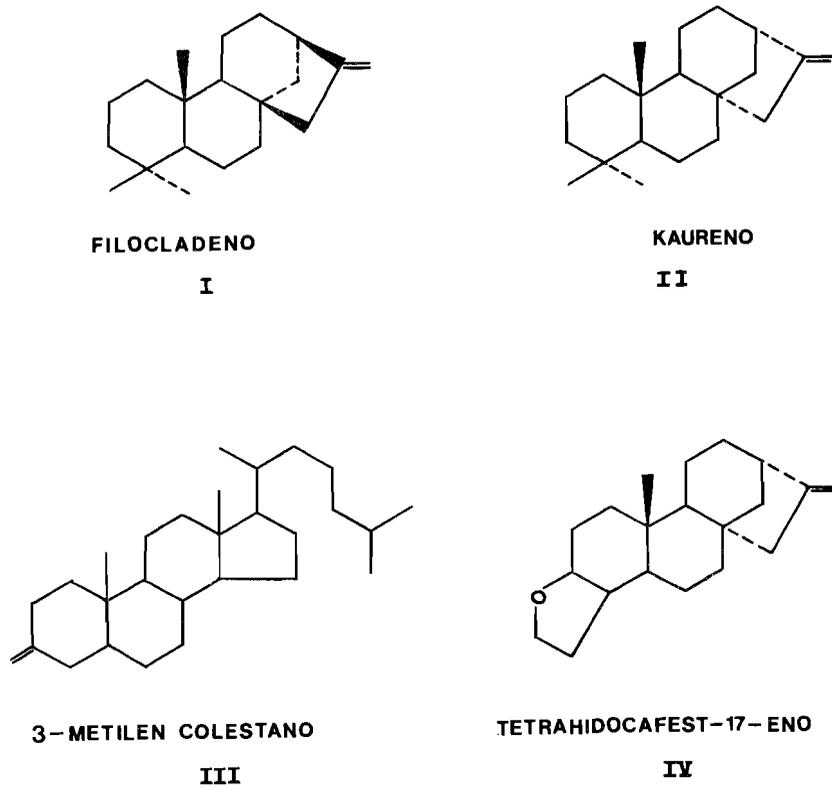


Fig. 1

II. - A N T E C E D E N T E S

A).- MARCAJE CON ^{13}C Y DISTRIBUCION AL AZAR.

A pesar del gran interés teórico que representa el marcaje isotópico con ^{13}C de compuestos orgánicos y de ser un tema relativamente viejo, hay muy pocos trabajos reportados en esta área. Uno de los primeros y de mayor interés es el publicado por Stevenson,⁹ quien observó que en la disociación del propano por impacto electrónico a 70 eV marcado en la posición 1 con ^{13}C y el mismo propano marcado en la posición 2 con ^{13}C , las intensidades relativas de los fragmentos conteniendo uno y dos átomos de carbono no se podían distinguir para cada uno de estos compuestos. La explicación dada a este hecho experimental fue la de considerar que en el ión molecular (C_3H_8)⁺ los átomos de carbono perdían su identidad no manteniendo una posición determinada, produciéndose así la fragmentación de una manera estadística, lo cual implica que la carga debería estar distribuida en todos los átomos de carbono del ión molecular.

Posteriormente Rylander y Meyerson,¹⁰ postularon como intermediario en la fragmentación del terbutil benceno y algunos compuestos análogos, un catión ciclopropano (fig. 2) con el fin de explicar la ruptura en la posición α al fenilo de estos compuestos. El terbutil benceno fue marcado con ^{13}C en la posición α al fenilo. Los resultados obtenidos mostraron que los fragmentos correspondientes a 7 átomos de carbono (b fig. 2) solo un 33% contenía ^{13}C y un 66% de estos iones estaban sin

marca, también se encontraron fragmentos de 9 átomos de carbono, pero no de 8 átomos. Esto establecía que después de la pérdida de un metilo del terbutil benceno, el ión resultante de 9 átomos de carbono (a) presentaba una redistribución de los 3 átomos de la cadena lateral perdiendo éstos su identidad.

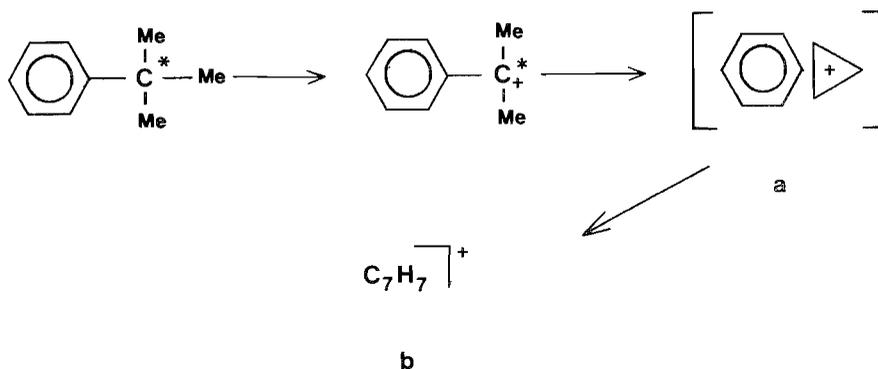


Fig. 2

Este modelo fue empleado para explicar resultados anteriores obtenidos de la fragmentación de neopentano. Esta molécula fue marcada con ^{13}C en dos posiciones (fig. 3) encontrándose que después de la pérdida de 15 u.m.a. el ión butilo resultante sufre un arreglo, haciéndose indistinguibles los átomos de carbono, al estar la carga repartida en los 4 átomos.

Como se podrá observar los porcentajes de ^{13}C contenidos en los fragmentos corresponden a una distribución estadística de la marca en el ión $(\text{C}_4\text{H}_9)^+$.

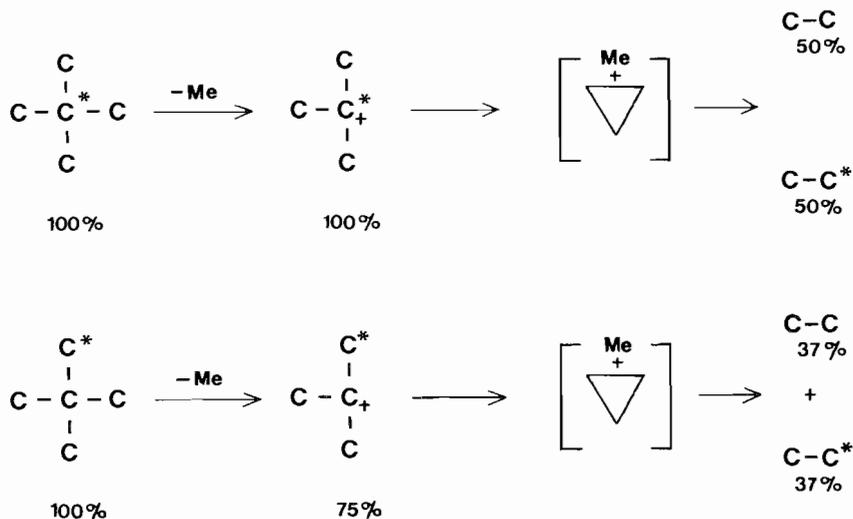


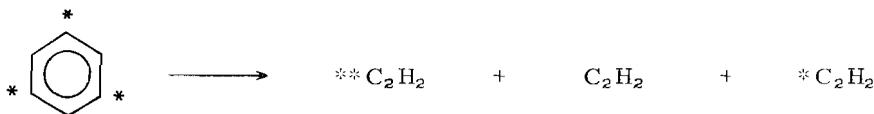
Fig. 3

Estos ejemplos constituyen las primeras evidencias de la distribución al azar o estadística en espectrometría de masas.

En algunos ejemplos podemos observar que la distribución estadística se puede presentar a nivel de ión molecular como el caso del propano o bien después de una fragmentación sucesiva como en estos últimos casos del terbutil benceno y neopentano. Además esta distribución puede ser de una manera total, en la cual todos los átomos involucrados en el ión molecular o en un determinado ión pierden su posición original o su "identidad", o bien puede ser una distribución al azar parcial en donde solo algunos pero no todos los átomos del ión sufren la redistribución.

Como ejemplo de la distribución al azar total en espectrome-

tría de masas se encuentran reportados en la literatura química algunos ejemplos de moléculas aromáticas sumamente interesantes como es el caso del benceno¹¹ conteniendo ¹³C en posiciones 1, 3, y 5 (fig. 4).



% Esperado sin D.A.	0	0	100.0
% Obtenido	17.8	21.4	60.8
% Teórico con D.A.	20.0	20.0	60.0

D.A. = Distribución al azar

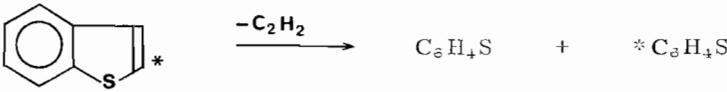
* C = ¹³C

Fig. 4

Para esta molécula se esperaría que todo el acetileno obtenido estuviese marcado con ¹³C si no existiera distribución al azar, sin embargo los resultados obtenidos (fig. 4) muestran una situación diferente. Es evidente que estos resultados tienen una correlación muy estrecha con la distribución al azar completa de los 6 átomos de carbono.

Un caso similar en donde se presenta también la distribución estadística del benceno pero ahora marcado también con D además de ¹³C ha sido reportado por Beynon et. al.¹² encontrándose que las rupturas C-C y C-H se llevan a cabo casi en forma independiente.

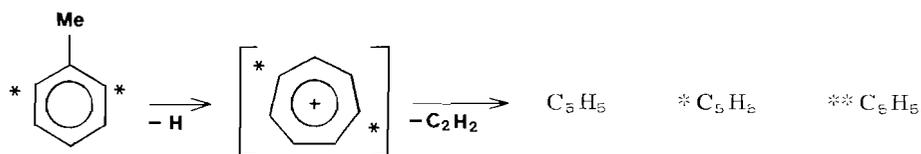
El benzotiofeno constituye también un ejemplo interesante ya que se tiene un heteroátomo el cual es una excusa para localizar la carga en uno de sus orbitales de no unión, sin embargo Cooks et. al.¹³ analizando los resultados para los diferentes fragmentos, como por ejemplo los mostrados en la fig. 5 llegaron a la conclusión de que éstos solo se podían explicar mediante una distribución estadística de la marca.



% Encontrado	100	+	* C ₆ H ₄ S
% Teórico con D.A.	100		53

Fig. 5

Uno de los descubrimientos más importantes e interesantes en espectrometría de masas ha sido el encontrar que el ión (C₇H₇)⁺ derivado del tolueno y sistemas bencílicos relacionados, no es un simple ión bencílico, sino otra especie un poco más compleja pero a la vez más simétrica, como por ejemplo el ión tropilio.¹⁴ En la fragmentación del tolueno¹⁵ marcado en las posiciones 2 y 6 con ¹³C se encontró que los porcentajes de ¹³C retenidos por los fragmentos C₆H₆ no coincidían con los esperados para la fragmentación normal del ión tropilio (fig. 6).



% Encontrado	5.7	46.7	47.6
% Teórico con D.A.	4.8	47.6	47.6

Fig. 6

Sorprendentemente y contra todo lo que se pudiera esperar aparece el fragmento de C_5H_5 sin marca lo cual implica que el fragmento perdido C_2H_2 contiene los dos átomos de ^{13}C . Estos datos y los reportados para el yoduro de tropilio marcado¹⁶ muestran con mucha claridad la distribución al azar en el tolueno y ponen en duda al ión tropilio como única estructura posible para el intermediario iónico $(C_7H_7)^+$.

Estas consideraciones se ven reflejadas en un estudio muy amplio acerca de las estructuras posibles de estos iones $(C_7H_7)^+$ hecho por McLafferty,¹⁷ quien hace un análisis de los fragmentos $(C_7H_7)^+$ provenientes de diferentes orígenes (toluenos, heptatrienos y norbornadienos sustituidos) y propone las estructuras mostradas en la fig. 7 haciendo énfasis en que la interconversión de estos iones es poco probable ya que las barreras energéticas que hay que vencer en dicha interconversión es considerablemente grande, por lo tanto el "equilibrio" entre estos esqueletos se ve más favorecido a nivel de ión molecular.

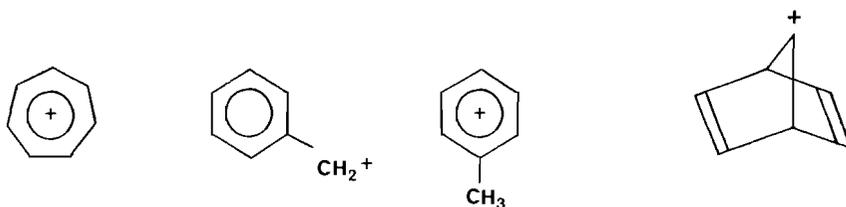


Fig. 7

Si bien aquí en particular no se menciona como probable explicación una distribución al azar como en el caso del 1-cloro hepta-2,4-dien-6-ino,¹⁸ si es notable el hecho de recurrir a varios modelos estructurales para poder explicar el comportamiento de estos "diferentes iones benéficos".

Otro aspecto sumamente interesante del trabajo de McLafferty es el hecho relacionado con las diferencias en la energía cinética liberada en el proceso de fragmentación de $(C_7H_7)^+$ y $(C_5H_5)^+$ para los picos metaestables de los diferentes iones $(C_7H_7)^+$ de la fig. 7. Dichas diferencias son atribuidas a la distribución de la energía interna por cada uno de los iones C_7H_7 y no a sus diferencias en estructura.

La teoría del quasi-equilibrio (TQE),¹⁹ que es la primera descripción teórica hecha con el fin de explicar los procesos de fragmentación de especies poliatómicas después de la ionización y su espectro de masas resultante, menciona como uno de sus postulados básicos el hecho de que la energía de un ión producido por impacto electrónico (IE), ionización química (IQ), o fotoionización (FI) se distribuye en forma estadís-

tica en los niveles vibracionales y electrónicos internos del ión. La distribución estadística de las fragmentaciones y los rearrreglos anteriormente discutidos están de acuerdo con este postulado de la TQE.

Para la aplicación de la TQE generalmente se requiere de una serie de parámetros que aumentan en número y complejidad al aumentar el número de átomos de una molécula, por lo tanto para moléculas complejas no son fáciles de obtener, como por ejemplo la frecuencia vibracional correcta, la posibilidad de descomposición de los estados electrónicos excitados y la distribución de energía de los iones. Además una limitación importante de esta teoría es la relacionada a la intensidad relativa de un ión en particular A^+ la cual depende de dos constantes de velocidad a saber: su constante de formación K_f y su constante de descomposición K_d , las cuales son difíciles de evaluar.



Los procesos de distribución al azar han seguido reportándose tanto para moléculas alifáticas como es el caso del isobuteno,²⁰ o bien en moléculas aromáticas,¹⁶ pero aquí surgen algunas preguntas obligadas: la distribución al azar es un fenómeno general para moléculas alifáticas?, para aromáticas? heterocíclicas?, ocurre en uno o varios pasos?, influye el tamaño de la molécula?, deberá tener ciertas características o restricciones la molécula para que presente la distribución al azar?. Nuestro trabajo va encaminado a responder aunque sea parcialmente es-

tas preguntas para el caso de hidrocarburos policíclicos con la ayuda de la técnica de marcaje isotópico (^{13}C) y un programa de computación desarrollado para calcular el % de marca de los fragmentos obtenidos.

B).- PROGRAMAS DE COMPUTO EN ESPECTROMETRIA DE MASAS.

El advenimiento y desarrollo acelerado de las computadoras digitales, ha traído como consecuencia un desarrollo revolucionario en muchos campos de la ciencia y tecnología. Entre éstos hay varios campos donde se tratan problemas surgidos con anterioridad al uso de estas máquinas, pero cuya solución era muy compleja o aparentemente no tenían solución, sin embargo la aparición de estos instrumentos no solo ha facilitado el trabajo en estos campos con anterioridad poco desarrollados sino que los ha convertido en áreas fértiles para el desarrollo de nuevos conceptos y técnicas que actualmente se utilizan rutinariamente y que resuelven problemas que anteriormente solo eran atacados por el hombre.

Este desarrollo ha alcanzado el campo de la química y en especial el área del análisis instrumental²¹ como lo son el IR, la RMN, la cromatografía en fase de vapor y espectrometría de masas entre otras técnicas instrumentales.

Un excelente ejemplo de la aplicación de programas de cómputo en espectrometría de masas es la combinación de un cromatógrafo de gases a un espectrómetro de masas.²² En esta unión de instrumentos el espectro de masas de cada componente que es eluido del cromatógrafo es determinado, y registrado en la computadora. Así, si el cromatógra-

fo pudiese registrar un pico de una sustancia cada 10 seg., es tiempo suficiente para que el espectro de masas (de alta resolución para cada uno de los fragmentos) pueda ser registrado y examinado, cosa que sería casi imposible para un operador.

La importancia de todo esto no solo radica en el manejo rápido de un cúmulo de datos, sino también en una asignación estructural determinada, por ejemplo la interpretación de espectros de baja resolución de cetonas,²³ basada en los procesos empíricos de fragmentación conocidos o bien mediante la selección de grupos funcionales y esqueletos estructurales,²⁴ o fórmulas mínimas de todas las estructuras acíclicas posibles²⁵ de C, H, N y O, pudiéndose restringir en un momento dado el número de estructuras a un determinado número de grupos funcionales.

La aplicación de estos métodos de cómputo se ha extendido a la predicción del ión molecular²⁶ cuando éste no aparece en el espectro de masas (caso muy frecuente) en función del análisis de los fragmentos subsecuentes y la relación entre éstos y una serie de fragmentaciones inmediatas.

En otras áreas por ejemplo bioquímica²⁷ se han desarrollado programas específicos para determinar la secuencia de aminoácidos en moléculas pequeñas de péptidos. También en geoquímica y problemas ambientales se han aplicado estos programas de computación.²⁸

El programa desarrollado por nosotros tiene un enfoque un

poco diferente a los mencionados anteriormente, ya que tiene como objetivo principal el cálculo del porcentaje de marca (^{13}C) para todos los fragmentos de una molécula y mediante el análisis de los más significativos según estos cálculos, poder predecir un patrón de fragmentación para las moléculas analizadas.

III. - PARTE EXPERIMENTAL

A).- PREPARACION DE LOS COMPUESTOS.

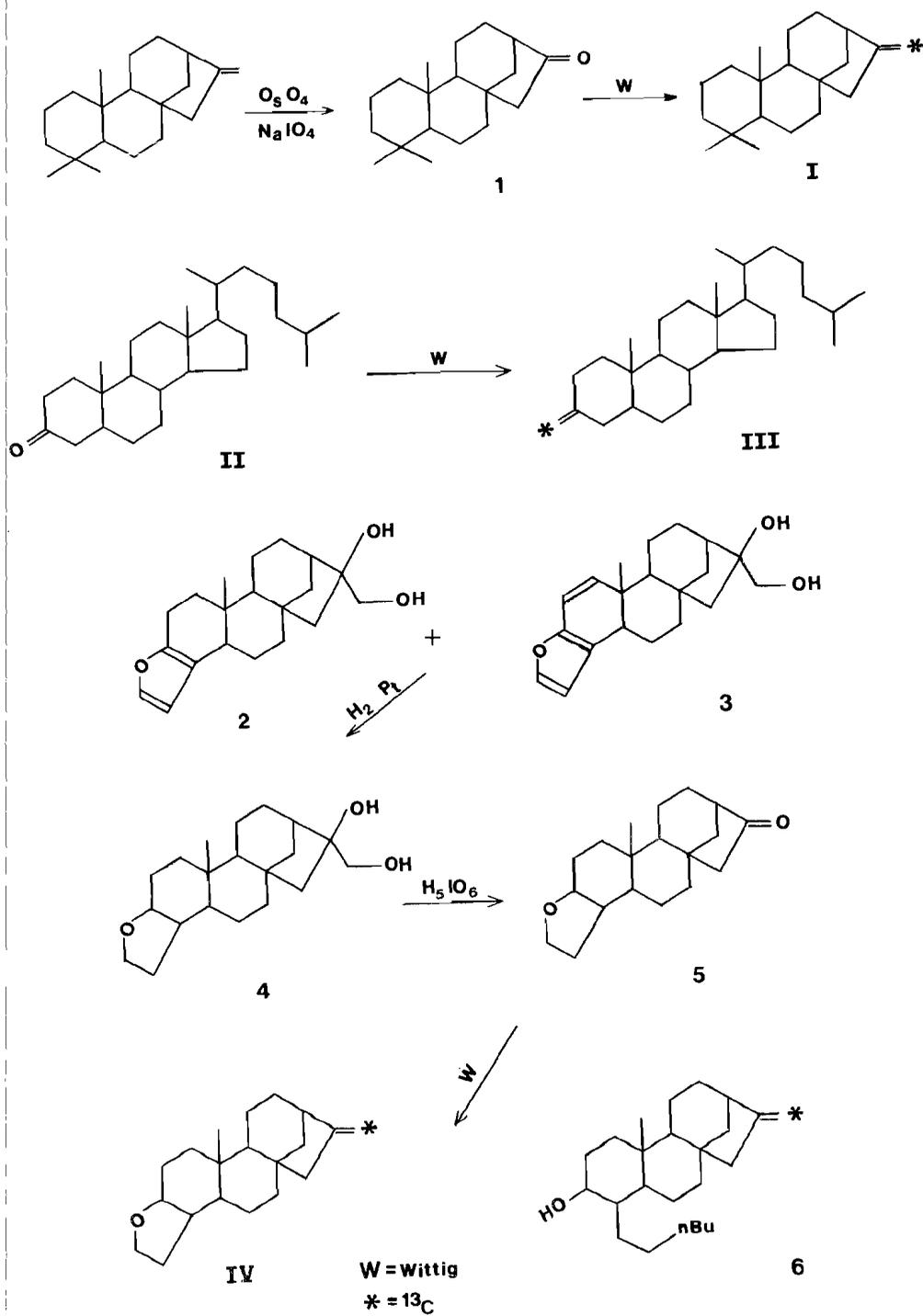
Los compuestos estudiados fueron preparados siguiendo la secuencia de reacciones mostradas en el esquema 1 y cuyas técnicas se describen a continuación.

17-¹³C-FILOCLADENO (I).

a).- 17-norfilocladanona (1). A una solución de 1 g de filocladeno en 11 ml de ácido acético al 80%, se agregaron 13 ml de una solución al 1% de tetróxido de osmio en alcohol terbutílico,²⁹ la mezcla de reacción se agita durante 30 min. aproximadamente, durante este tiempo la solución va adquiriendo un color gris oscuro. Una solución de yodato de sodio en 30 ml de ácido acético al 80% fue añadida y se deja con agitación durante toda la noche. A la mezcla de reacción (la cual se decoloró durante este tiempo) se le separó un sólido blanco por filtración lavándolo con hexano y acetato de etilo, el filtrado fue concentrado al vacío, el residuo se diluye con acetato de etilo y lavado con una solución de hidrosulfito de sodio y agua, se seca con sulfato de sodio anhidro y se evapora el disolvente. El residuo 770 mg de un sólido color café se cristaliza de etanol-agua hasta obtener un $pf = 96-97^{\circ}C$ (lit. $93-95^{\circ}C$ ³⁰) y un rendimiento de 76.2%.

b).- 17-¹³C-filocladeno (I). Este producto se obtuvo mediante una reacción de Wittig cuya técnica que a continuación se describe fue la

Esquema I



utilizada para preparar todos los alquenos, normales y marcados con ^{13}C , para estos últimos se utilizó yoduro de metilo enriquecido con un 62.4% de ^{13}C para preparar el reactivo de Wittig.

METODO GENERAL.- En un matraz de 3 bocas de 100 ml equipado con refrigerante, entrada para gases y agitación magnética se colocan 523 mg de yoduro de trifenil metil fosfonio, 30 ml de éter anhidro, se le pasa una corriente de nitrógeno y después de 3 min se añaden 2 ml de una solución hexánica al 15% de butil litio, apareciendo un color amarillo, se deja con agitación durante 45 min. Después de este tiempo se añaden 355 mg de 17-norfilocladanona disuelta en éter, la coloración va desapareciendo paulatinamente de la solución. La mezcla de reacción se deja con agitación durante toda la noche. El éter se elimina por destilación y se agregan 30 ml de tetrahidrofurano anhidro y se calienta a reflujo durante 2 hs. El THF se evapora y el residuo se diluye con agua, se extrae con éter, la capa etérea se lava con HCl diluido y posteriormente con agua, se seca con sulfato de sodio anhidro y se elimina el disolvente. El residuo se cromatografía en placa delgada de sílice empleando como eluyente hexano. El sólido recuperado con benceno de la sílice se cristaliza de etanol y se purifica por sublimación, obteniendo 180 mg de cristales con un $\text{pf} = 97-98^\circ\text{C}$ y que corresponden a un rendimiento del 20.7%.

3- ^{13}C -METILEN-COLESTANO (III).

El 3-metilen-colestano fue obtenido a partir de 3 colestanona mediante una reacción de Wittig con la técnica anteriormente descrita. El producto tiene un $pf = 64-65^{\circ}C$ (lit. $64-65^{\circ}C^{31}$) y un rendimiento de 43 %.

TETRAHIDROCAFESTEN-17- ^{13}C -ENO (IV).

a). - Aislamiento del cafestol (2). - Café verde peregrino (5 kg) fue molido finamente y extraído en un soxhlet con cloroformo según el método descrito por Slotta y Neisser,^{32, 33} el extracto clorofórmico (aproximadamente 150 g) fue diluido con 2 l. de éter, la suspensión resultante se filtra desechando el sólido, se elimina el éter y el aceite obtenido se diluye con 600 ml de acetona, a esta solución se añaden 4.5 g de celita y una suspensión de 110 g de hidróxido de bario finamente pulverizado en 700 ml de agua libre de bióxido de carbono, la mezcla se coloca en el baño de vapor a reflujo durante 8 hs. aproximadamente. La mezcla de reacción se filtra en caliente para separar las sales de bario, lavando el sólido 2 ó 3 veces con porciones de 300 ml de acetona. Todos los filtrados se juntaron y la acetona se elimina por destilación. Para completar la saponificación del aceite se añaden 50 ml de hidróxido de sodio 2 N y 500 ml de alcohol etílico colocándose a reflujo durante otra hora. El alcohol se elimina al vacío y el líquido resultante se enfría y se le pasa una corriente de bióxido de carbono, precipitando carbonatos, cafestol e impurezas. El sólido se filtra y el filtrado extraído con 2 porciones de éter de 250 ml cada una. El sólido se digiere 3 veces en

400 ml de acetona cada vez, la acetona se concentra hasta un volumen muy pequeño, se enfría y se diluye con 1200 ml de éter. Las soluciones etereas se juntan, se lavan con agua, se secan con sulfato de sodio anh y se elimina el éter. El residuo, un aceite viscoso color café rojizo se cromatografía en columna de sílice empleando como eluyente una mezcla de acetato de etilo-hexano 1:1. Las fracciones que cristalizan se colocan en un soxhlet y se extraen con hexano durante 8 hs. La solución hexánica se deja enfriar y cristalizan 2.5 g un producto con $pf = 156-157^{\circ}C$ (lit. 158-160³³).

El método empleado (con algunas modificaciones) está reportado para extraer cafestol,³² sin embargo los datos espectroscópicos (RMN sobre todo) indican que lo más probable es que se tenga una mezcla de cafestol y kawool.³⁴

b).- Tetrahidrocafestol (4).- En un matraz de 250 ml se colocan 2 g de cafestol, 150 ml de etanol y 35 mg de PtO_2 , y se ponen a hidrogenar a presión y temperatura ambiente hasta hidrogenación total (controlada por cromatografía en placa), una vez terminada la hidrogenación el catalizador se filtra y el etanol se evapora quedando un sólido el cual se purifica por cromatografía en capa fina empleando como eluyente una mezcla de acetato de etilo-hexano 1:1, obteniendo 1.7 g (rendimiento de 84%) de producto con un $pf = 157-159^{\circ}C$ (lit. 157-159³⁵).

c).- 17-nortetrahidrocafestanona (5).- En un matraz de 100

ml se colocan 500 mg de tetrahidrocafestol en 60 ml de metanol y se le añaden 500 mg de H_5IO_6 disueltos en 15 ml de agua y se dejan con agitación durante toda la noche protegiendo el matraz de la luz. La solución se neutraliza con bicarbonato de sodio y se evapora un poco de metanol, obteniéndose un precipitado el cual se separa por filtración y se lava con acetato de etilo y acetona. El filtrado se extrae con acetato de etilo, las fracciones orgánicas se secan sobre sulfato de sodio, se evapora el disolvente, obteniéndose 340 mg de cetona (rendimiento de 75%), el cual fue cristalizado de acetato de etilo-hexano, hasta obtener un punto de fusión de 130-131°C (lit. 129-130°C³⁶).

d).- Tetrahidrocafesten-17-¹³C-eno (IV). - Fue obtenido mediante una reacción de Wittig cuya técnica es la del método general, obteniéndose 54 mg (rendimiento 15%) de un producto con pf = 67-68°C y que corresponde a IV. En la purificación de este producto se obtuvieron 78 mg de otro producto con pf = 87-89°C al cual se le asignó la estructura 6 en función de sus datos espectroscópicos IR, 3350, 2980, 1630, 1220 y 890 cm^{-1} RMN, Fig. 28, en espectrometría de masas mostró M^+ ; 344 y M^+-18 .

B).- ANALISIS

A todos los compuestos se les determinaron sus constantes espectroscópicas (IR, RMN y espectro de masas), y sus propiedades físicas (pf, solubilidad etc.) fueron comparadas con las reportadas en la literatura, para su completa caracterización.

Los espectros de masas de los diferentes compuestos fueron obtenidos en un aparato Hitachi Perkin Elmer RMU-7H doble foco, utilizando un sistema de introducción directa a una temperatura de 90-100°C (en el sistema inductor) y de 175°C en la cámara de ionización, con un voltaje de ionización de 70 eV. Estos espectros fueron determinados por el Dr. E. Cortés y el M. en C.R. Miranda, a quienes agradecemos su generosa colaboración.

Los espectros de masas de los compuestos I, II, III y IV fueron sometidos al programa de cómputo MPC (que se discute a continuación en el capítulo IV) proporcionándole solo las intensidades relativas de cada uno de los fragmentos.

En las figuras 25, 26 y 27 se presentan graficados los espectros de masas de los compuestos estudiados, antes y después de haberlos sometido al programa MPC con el fin de mostrar que no sufrieron alteraciones debido a dicho programa.

IV.- RESULTADOS Y DISCUSION

A).- PROGRAMA DE COMPUTO MPC PARA EL CALCULO
DEL PORCENTAJE DE ^{13}C EN UN FRAGMENTO.

El programa que a continuación se describe está basado principalmente en la comparación de los espectros de masas de una sustancia normal y la misma sustancia marcada con ^{13}C .

PROGRAMA MPC.

1).- Símbolos

- n = relación masa/carga.
- M^+ = ión molecular del compuesto sin marca.
- $I_{gn}(i)$ = intensidad de los fragmentos del espectro de masas del compuesto sin marca (^{13}C).
- $I_{no}(i)$ = intensidad de los fragmentos del espectro de masas del compuesto marcado experimentalmente.
- $I_n(i)$ = intensidad de los fragmentos del espectro de masas marcado totalmente (espectro artificial).
- G_{po}
 $\sum_i I(i)$ = suma de intensidades para cada grupo.
- $F(i)$ = factor de normalización del grupo i

2).- Espectros.- Se determina el espectro de masas del compuesto normal (A) y del compuesto marcado (B, fig. 8 donde representamos el grupo del ión molecular).

3).- Normalización.- Los datos procedentes del espectrometro de masas son acumulados en grupos de fragmentos de una manera arbitraria y son normalizados a 100 con el fin de establecer sus porcentajes relativos. Se efectúa una segunda normalización por grupos, con el objeto de minimizar los efectos que pudiera causar la variación de la presión de la muestra, esta normalización se lleva a cabo mediante la siguiente formulación:

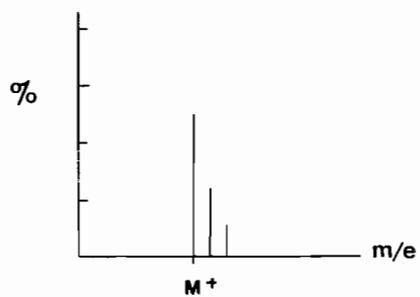
$$F(i) \sum_i^{Gpo} I_{ne}(i) = \sum_i^{Gpo} I_{sn}(i)$$

por lo tanto:

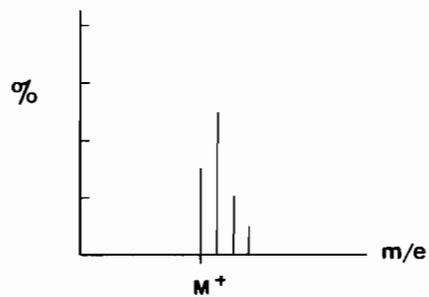
$$F(i) = \frac{\sum_i^{Gpo} I_{sn}(i)}{\sum_i^{Gpo} I_{ne}(i)}$$

Este factor de normalización tiene como objeto que los grupos sean parecidos en intensidades (los grupos correspondientes en cada espectro), como si se hubieran determinado los espectros en idénticas condiciones.

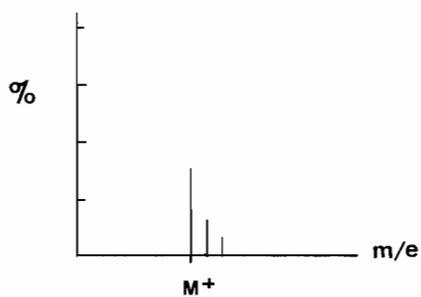
4).- Espectro marcado en un 100% con ^{13}C .- Se procedió a obtener un espectro marcado en un 100% de una manera artificial ya que es difícil obtenerlo experimentalmente (el reactivo utilizado estaba marcado solo en un 62.4%), esto se efectuó de la siguiente manera: En el



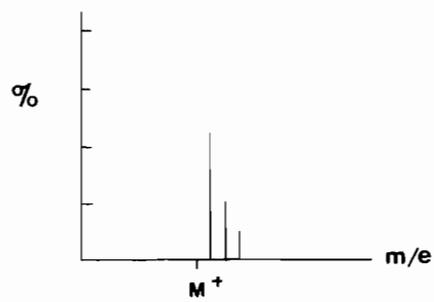
A



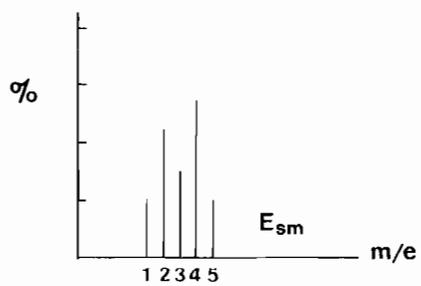
B



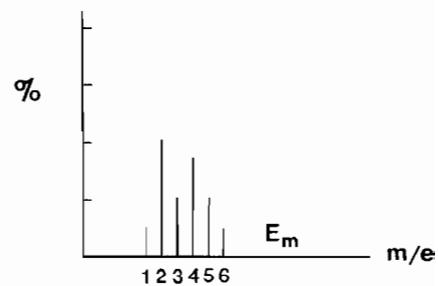
C



D



E



F

fig.8

grupo del ión molecular se obtiene un factor de normalización f , con el objeto de que el ión molecular M^+ del espectro A sea de la misma intensidad que el fragmento de $n = M^+$ en el espectro B, dando como resultado el espectro C (fig. 8).

$$f = \frac{I_{m_a}(M)}{I_{s_b}(M)}$$

Si ahora nosotros restamos grupo a grupo mediante la formula 2 el espectro C del B, obtendremos matemáticamente un espectro marcado 100% con ^{13}C , el cual es normalizado de nuevo a 100 ya que sus intensidades relativas fueron modificadas por la resta

$$I_n(i) = I_{m_a}(i) - f I_{s_b}(i) \quad (2)$$

5).- Cálculo del % de marca.- Ahora vamos a analizar el espectro de la substancia sin marca y el espectro de la substancia marcada en un 100% obtenido matemáticamente, para ello vamos a seleccionar un grupo cualquiera diferente al del ión molecular. Para cada fragmento de determinada relación m/e habrá 3 posibilidades:

A).- Que se haya formado por contribución de uno o varios fragmentos que contengan la marca (^{13}C) y por lo tanto este ión aparecerá desplazado una unidad de masa en el espectro de la substancia marcada.

B).- Que se haya formado por contribución de uno o varios

fragmentos que no contengan la marca y por lo tanto no sufrirá ningún desplazamiento de su relación m/e en el espectro de la substancia marcada.

C).- El caso más general es cuando un ión de m/e determinada tiene varios orígenes y cuyos fragmentos que contribuyen a su formación unos contendrán la marca y otros no, de tal manera que este ión en el espectro marcado solo una parte de él aparecerá desplazado. Esta fracción de intensidad del ión que se desplaza formará parte ahora del ión $m/e + 1$, el cual a su vez se podría encontrar en la misma situación que el ión anterior, es decir mezclado con fragmentos que tenga marca y/o sin ella de tal manera que parte de este se desplazará a la siguiente unidad de masa y así sucesivamente. Por lo tanto la cantidad de marca que contiene un fragmento determinado (que no sea el primero del grupo) será la diferencia entre la cantidad de marca (Z) que le llega del fragmento anterior y la cantidad de marca que se desplaza al fragmento posterior.

Como se podrá observar las posibilidades A y B no son más que dos casos particulares de este caso general. Ejemplificaremos este caso general con un grupo E y F de la fig. 8.

Para el pico inicial del grupo (1) del espectro sin marca (E_{s_1}) se tendrá:

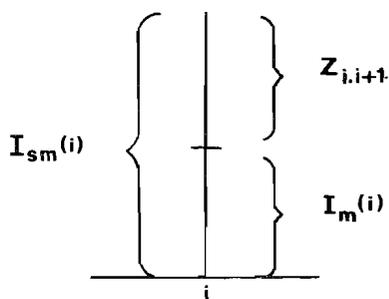


Fig. 9

$I_{sm}(i)$ = intensidad del fragmento de $m/e = i$ en el espectro sin marca.

$Z_{i,i+1}$ = fracción de la intensidad del fragmento i que al marcarse la substancia se desplaza a $i+1$ en el espectro marcado (E_m).

$I_m(i)$ = intensidad del fragmento de $m/e = i$ que al marcarse la substancia permanece invariable y cuya intensidad corresponderá a i en el espectro marcado.

De tal manera que para nuestro ejemplo (espectros E y F) se tendrá la siguiente relación:

$$I_m(1) = I_{sm}(1) - Z_{1,2}$$

Para el siguiente fragmento (2), en el espectro sin marca se tendrá una situación similar, una parte de este fragmento que será invariable con relación a la marca y otra que se desplazará cuando la substancia

sea marcada. Con respecto al segundo pico del espectro marcado, la intensidad de éste estará en función de la intensidad del fragmento sin marca, más la contribución del fragmento anterior ($Z_{1,2}$), menos la fracción que se desplazará al siguiente fragmento ($Z_{2,3}$), gráficamente esto lo podemos representar por la fig. 10.

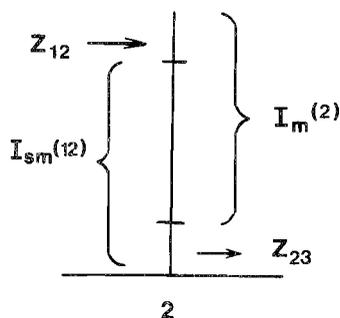


fig.10

Para los fragmentos subsecuentes se tendrá una situación similar de tal manera que lo podemos representar matemáticamente con las siguientes relaciones:

$$I_m(2) = I_{sm}(2) + Z_{1,2} - Z_{2,3}$$

$$I_m(3) = I_{sm}(3) + Z_{2,3} - Z_{3,4}$$

$$I_m(4) = I_{sm}(4) + Z_{3,4} - Z_{4,5}$$

$$I_m(5) = I_{sm}(5) + Z_{4,5} - Z_{5,6}$$

$$I_m(6) = I_{sm}(6) + Z_{5,6} - Z_{6,7}$$

Para este último fragmento (6) del grupo es muy común que:

$$I_{s_n}(6) = 0 \text{ y } Z_{6,7} = 0 \quad \text{por lo tanto:}$$

$$I_n(6) = Z_{5,6}$$

Despejando Z

$$Z_{1,2} = I_{s_n}(1) - I_n(1)$$

$$Z_{2,3} = I_{s_n}(2) - I_n(2) + Z_{1,2}$$

$$Z_{3,4} = I_{s_n}(3) - I_n(3) + Z_{2,3}$$

$$Z_{4,5} = I_{s_n}(4) - I_n(4) + Z_{3,4}$$

$$Z_{5,6} = I_{s_n}(5) - I_n(5) + Z_{4,5}$$

$$Z_{5,6} = I_n(6) \quad \text{----- (4)}$$

Substituyendo los valores de Z en las ecuaciones sucesivas

(4) tenemos:

$$Z_{1,2} = [I_{s_n}(1) - I_n(1)]$$

$$Z_{2,3} = [I_{s_n}(2) - I_n(2)] + [I_{s_n}(1) - I_n(1)]$$

$$Z_{3,4} = [I_{s_n}(3) - I_n(3)] + [I_{s_n}(2) - I_n(2)] + [I_{s_n}(1) - I_n(1)]$$

$$Z_{4,5} = [I_{s_n}(4) - I_n(4)] + [I_{s_n}(3) - I_n(3)] + [I_{s_n}(2) - I_n(2)] + [I_{s_n}(1) - I_n(1)]$$

$$Z_{5,6} = [I_{s_n}(5) - I_n(5)] + [I_{s_n}(4) - I_n(4)] +$$

$$\begin{aligned} & [I_{sn}(3) - I_n(3)] + [I_{sn}(2) - I_n(2)] + \\ & [I_{sn}(1) - I_n(1)] \text{ ----- (5)} \end{aligned}$$

$$Z_{5,6} = I_n(6) \text{ ----- (6)}$$

Generalizando:

$$Z_{i, i+1} = \sum_{k=1}^i [I_{sn}(k) - I_n(k)]$$

Donde k = m/e inicial del grupo.

Estas ecuaciones sucesivas se pueden resolver de dos maneras, substituyendo el valor de $Z_{1,2}$, que podemos conocer de los espectros y que es el método utilizado, o bien mediante el valor de $Z_{5,6}$, cuando este puede ser observado en el espectro de la sustancia marcada.

Definición de % de marca:

Conocemos ya la porción del fragmento que contiene ^{13}C (Z) y que es la cantidad de marca retenida por ese fragmento, por lo tanto si la relacionamos a la intensidad total del fragmento tendremos el porcentaje de marca para dicho fragmento:

$$\% R = \frac{Z_{i, i+1}}{I_{sn}(i)} \times 100$$

% R = % de marca del fragmento i que pasa a i+1, o bien

es el % de la intensidad de ese fragmento que contiene ^{13}C .

6).- Eficiencia del método.- La eficiencia del cálculo (E), se puede evaluar para cada uno de los grupos en particular mediante la siguiente relación:

$$E = \frac{Z_{\text{calc}}}{Z_{\text{obs}}}$$

En donde Z_{calc} puede ser por ejemplo $Z_{5,6}$ de la ecuación 5 y la Z_{obs} la misma $Z_{5,6}$ (ecuación 6) medida directamente del último pico del grupo en el espectro marcado. De esta manera se puede tener una idea relativa de la eficiencia ya que estará afectada en gran parte por el error cometido en la medición de este último pico del grupo, que por lo general su intensidad es muy baja. Sin embargo este error podrá eliminarse cuando los datos procedentes del espectrómetro de masas sean registrados directamente por una computadora acoplada a éste, cosa muy común en los aparatos actuales.

Un diagrama general de las partes principales de este programa se muestran en la fig. 11.

DIAGRAMA GENERAL

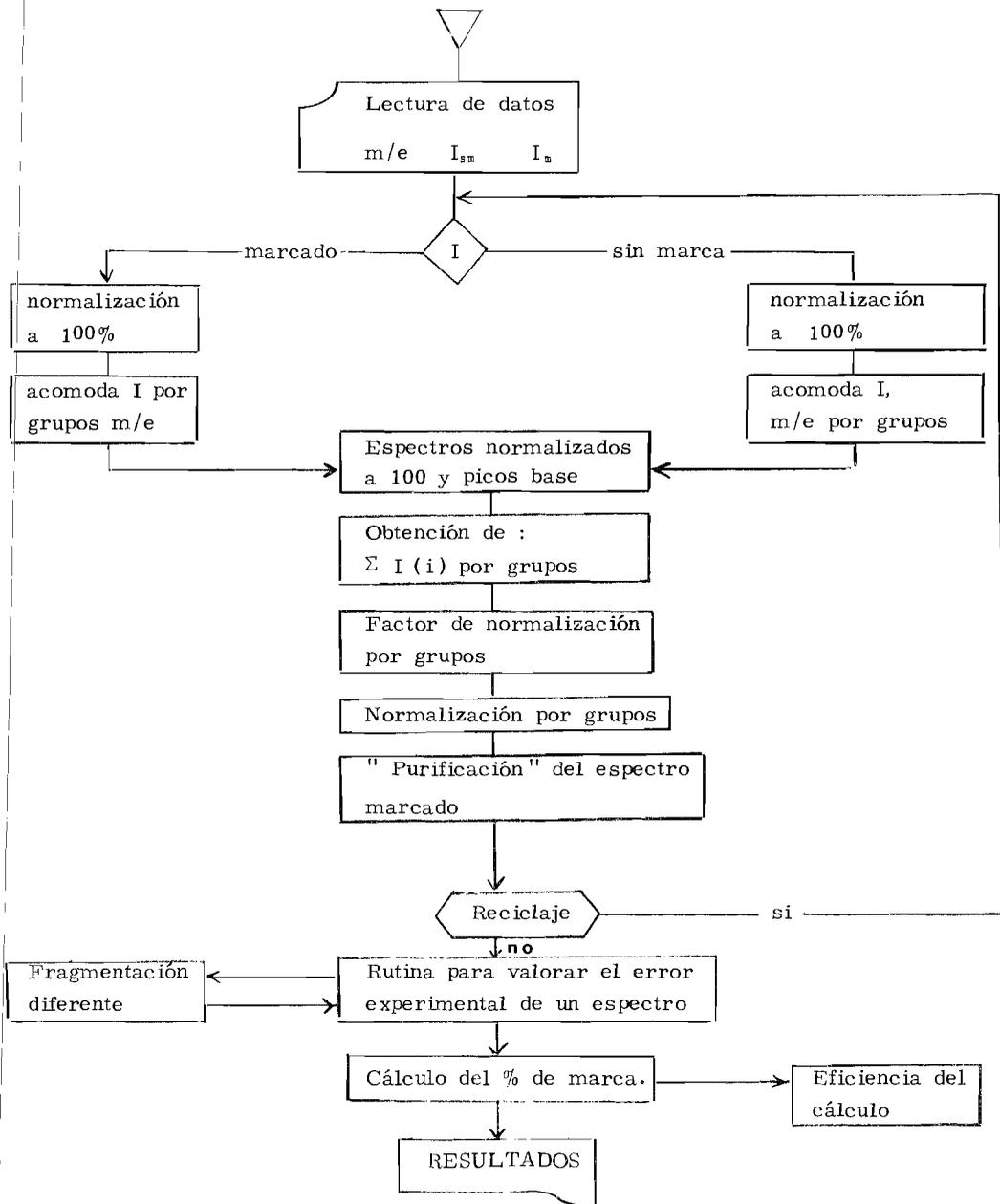


Fig. 11

B).- ANALISIS DE LOS ESPECTROS.

Los datos obtenidos directamente del espectrómetro de masas para el filocladeno, 17^{13}C filocladeno, kaureno, 17^{13}C kaureno, 3-metilen-colestano, $3-^{13}\text{C}$ metilen-colestano, tetrahidro cafesteno y 17^{13}C tetrahidro cafesteno, se sometieron al programa de cómputo MPC. Los resultados para cada pareja de espectros están contenidos en las tablas I, III y V respectivamente, donde se muestra la relación m/e, la intensidad del fragmento sin marca (I_{sm}), intensidad del fragmento marcado (I_m) y el % de (^{13}C) marca retenido por cada uno de los fragmentos tal como los enlista la computadora. En las figuras 13 a 24, el valor entre paréntesis indica el porcentaje de marca (^{13}C) retenido en cada uno de los fragmentos y la \curvearrowright indica desplazamiento de hidrógeno.

FILOCLADENO Y KAURENO

En la tabla I donde se muestran los datos obtenidos para el filocladeno podemos observar que la primera pérdida significativa, que es M^+-15 y asignada a la pérdida de un metilo, sorpresivamente no se encuentra un 100 % de marca retenida. Este fragmento (m/e 257) tiene solo un 95% de retención. Una posible explicación a este hecho es suponer la transferencia del doble enlace exocíclico al anillo D, a los anillos C, B, o A quedando en cierto momento una estructura tal que pueda perder un metilo marcado con ^{13}C (fig. 12). Esto también se observa en el caso del kaureno⁸ como lo podemos ver en la tabla II donde compara-

T A B L A I
FILOCLADENO

m/e	I _{sm}	I _n	% ¹³ C	m/e	I _{sm}	I _n	% ¹³ C
39	16.8	15.6	7.2	70	7.1	10.4	35.6
40	4.4	9.4	1.2	71	4.4	13.9	4.0
41	100.0	72.9	27.1	77	31.0	15.1	51.2
42	7.1	16.7	43.7	78	8.9	16.9	88.6
43	27.4	37.6	26.7	79	43.7	30.9	52.7
44	0.0	3.6	97.5	80	21.2	24.4	89.7
51	3.1	4.6	0.0	81	50.4	52.7	40.2
52	2.7	1.9	29.4	82	19.5	22.7	87.6
53	23.9	12.8	41.9	83	15.1	21.2	72.7
54	4.4	7.6	98.0	84	1.3	5.8	89.0
55	54.9	54.5	16.6	35	2.2	8.7	10.0
56	12.4	14.2	58.6	91	58.4	27.9	52.2
57	13.6	24.4	7.6	92	19.9	36.5	69.8
58	1.0	1.9	68.4	93	33.2	27.3	59.9
65	12.4	9.5	23.6	94	13.3	20.6	94.7
66	5.3	8.4	10.0	95	35.4	33.7	40.3
67	50.4	38.3	24.1	96	7.9	11.9	87.3
68	17.7	22.0	44.5	97	10.2	15.8	46.4
69	67.2	62.2	19.3	98	0.9	2.7	57.5

m/e	I _{sm}	I _m	% ¹³ C
99	0.0	2.9	100.0
103	3.5	2.1	39.5
104	4.4	5.7	3.4
105	36.3	18.5	49.3
106	21.4	22.3	79.4
107	22.1	22.4	75.1
108	17.2	15.4	97.2
109	25.7	33.9	39.9
110	4.4	8.2	72.5
111	4.9	6.2	9.7
112	1.1	2.6	2.9
113	0.0	0.6	100.0
115	4.0	2.7	32.2
116	2.7	2.7	47.2
117	10.6	6.2	53.5
118	4.4	6.8	30.2
119	21.4	11.6	51.6
120	14.6	14.2	77.1
121	11.5	15.3	61.9
122	7.1	9.9	60.3
123	26.6	25.3	20.7

m/e	I _{sm}	I _m	% ¹³ C
124	7.1	8.4	18.5
125	8.0	10.7	17.6
126	0.9	2.3	18.2
128	2.7	1.2	56.7
129	3.5	2.8	64.2
130	1.3	2.9	49.2
131	10.2	4.3	64.3
132	3.5	5.8	40.6
133	15.9	5.5	92.0
134	10.1	9.7	67.7
135	7.1	11.7	70.1
136	5.3	8.4	68.5
137	10.6	14.1	31.0
138	1.3	3.3	27.6
139	0.0	2.0	100.0
143	1.3	2.0	0.0
144	1.0	1.6	0.0
145	8.9	5.1	42.5
146	5.3	4.1	93.5
147	12.4	7.4	80.5
148	11.5	9.1	100.0

m/e	I _{sm}	I _m	% ¹³ C
149	8.0	12.8	94.7
150	2.7	5.4	7.1
151	3.0	3.3	7.3
152	1.0	1.0	2.5
157	1.0	1.0	0.0
158	1.0	0.5	60.1
159	9.3	0.0	100.0
160	2.7	7.6	76.3
161	5.3	4.0	100.0
162	3.5	8.0	45.6
163	4.4	5.6	26.7
164	1.0	1.7	26.4
165	1.0	1.9	10.0
173	4.4	1.4	67.9
174	1.8	2.8	100.0
175	7.5	2.1	100.0
176	4.0	7.5	79.3
177	2.7	3.5	70.1
178	1.3	1.3	1.7
187	9.7	0.0	100.0
188	4.0	7.8	90.0

m/e	I _{sm}	I _m	% ¹³ C
189	4.0	4.5	52.4
190	4.4	5.2	51.2
191	1.0	3.2	69.9
192	0.5	2.0	23.0
193	0.0	0.7	100.0
201	2.6	0.7	72.5
202	1.8	3.2	29.1
203	2.6	1.6	59.8
204	1.3	2.1	64.1
205	0.0	1.0	100.0
214	1.0	1.3	0.0
215	2.7	0.5	95.1
216	2.7	1.3	100.0
217	1.0	2.5	51.5
218	0.5	1.8	45.0
228	3.5	0.8	78.7
229	22.1	11.5	60.5
230	8.0	23.3	0.0
231	7.0	0.0	100.0
232	0.0	0.7	100.0

m/e	I_{sm}	I_m	$\%^{13}C$
243	3.0	0.0	100.0
244	3.0	1.8	62.7
245	0.0	0.6	100.0
257	16.8	0.8	95.2
258	2.7	14.7	97.5
259	0.0	3.9	100.0
272	23.9	0.0	100.0
273	5.3	23.5	100.0
274	0.5	5.5	100.0
275	0.0	0.6	100.0

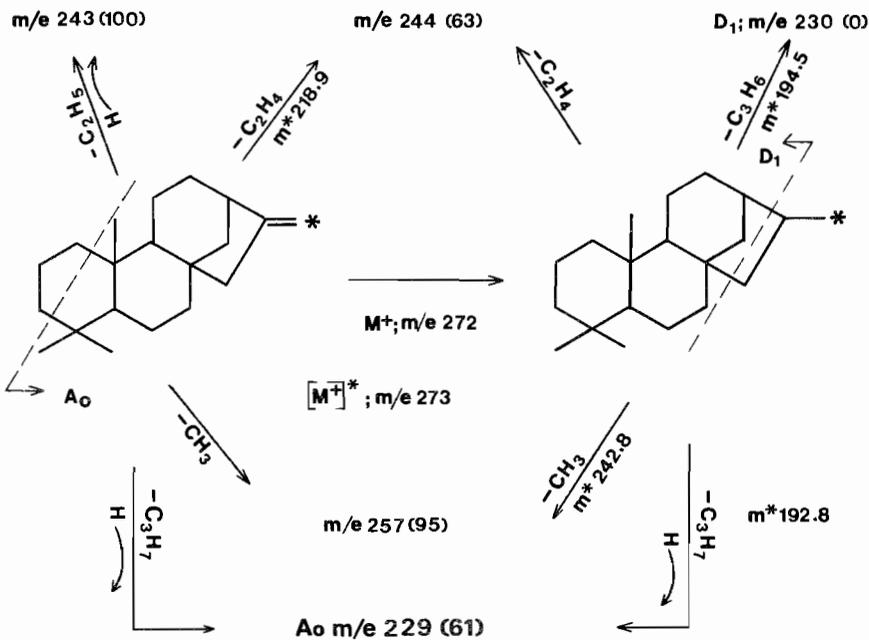


fig.12

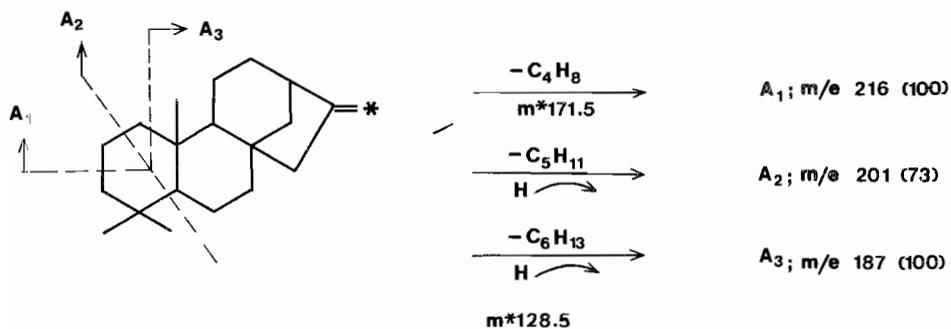


fig.13

mos los datos más significativos de estos dos estereoisómeros.

Para los fragmentos correspondientes a M^+-28 y M^+-29 se observa que al parecer estos iones no tienen el mismo origen estructural, ya que si éstos provienen de una misma estructura tendrían aproximadamente el mismo porcentaje de retención, sin embargo se observa que el ión de m/e 244 tiene solo 53% de marca, lo cual implica que la pérdida del fragmento C_2H_4 se efectúa también incluyendo al carbono marcado. Por otra parte parece más lógica la pérdida de C_2H_5 ya que el ión de m/e 243 tiene una retención específica de la marca (100%). Analizando la tabla II nos damos cuenta que estos datos difieren con los reportados⁸ y calculados por nosotros con el programa MPC para el kaureno. Para el ión m/e 230 se encuentra que hay una pérdida total de la marca (0.0% de retención de ^{13}C). Esto también se puede explicar mediante la suposición de la transferencia del doble enlace en el ión molecular (fig. 12), quedando así la posibilidad de la pérdida de ^{13}C en el fragmento C_3H_6 . Este hecho sorprendente tampoco se observa en el kaureno (tabla II). La explicación de estas diferencias de comportamiento entre estos dos estereoisómeros puede atribuirse a que en el primer paso del rearrreglo en el ión molecular puede ser la migración del doble enlace y esta migración sea más favorecida en el filocladeno debido a razones estéricas.

El ión de m/e 229 tiene un porcentaje de retención de 61%, aquí posiblemente cierto porcentaje de este fragmento tenga un origen similar a m/e 230, (el que no tiene retención de marca) y otro porcentaje

de otra parte de la molécula como por ejemplo A_0 de la fig. 12, de tal manera que es posible considerar que este ión tenga cuando menos dos orígenes diferentes.

Rupturas sobre el anillo A.- En las rupturas designadas como A_1 , A_2 , A_3 de la fig. 13, se encuentra una gran especificidad en las fragmentaciones, sobre todo en A_3 y A_1 donde los porcentajes de retención son del 100%. Esto es explicable ya que en el caso de A_3 se efectúa una ruptura entre los enlaces de carbono cuaternario-terciario y cuaternario-secundario y por lo tanto existe una gran probabilidad de ruptura como era de esperarse. Esto se confirma con un estudio teórico hecho recientemente³⁷ en donde se calculan los índices de unión de varias moléculas entre ellas kaureno y filocladeno.

En la fig. 14 se observan las posibles fragmentaciones a través de los anillos A y B, en donde se fragmentan 3 uniones^{3a} en las cuales encontramos una retención específica de la marca en AB_1 (100%), la cual también la podemos considerar de una probabilidad grande, ya que de las tres uniones que se rompen dos incluyen la ruptura de carbonos cuaternarios. De igual manera se pueden considerar las rupturas AB_4 y AB_5 , donde los porcentajes de retención de la marca coinciden con los esperados para estos fragmentos. Para los otros casos AB_2 y AB_3 no se encuentra gran especificidad.

Rupturas en el anillo B (fig. 15).- Podemos considerar los

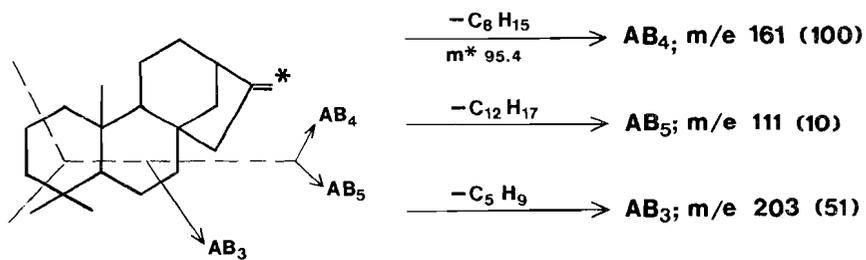
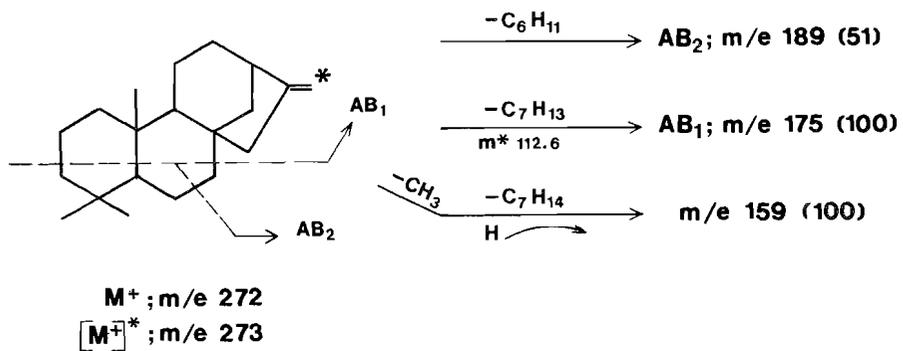


Fig. 14

porcentajes de retención de la marca de los iones que corresponden a las rupturas B_2 (100%), B_4 (92%), y B_6 (77%) y sus correspondientes complementos B_1 (20%), B_3 (23%) y B_5 (3%) corresponden a rupturas tan específicas como las encontradas para el anillo A. Tal vez el único valor de retención que pareciera un poco bajo es el correspondiente a B_6 , en donde esperaríamos un 100% de marca o un valor más aproximado a éste, debido a que es una ruptura aparentemente favorecida por la naturaleza de las uniones que tienen que romperse. Sin embargo podemos considerar en general que las rupturas en este anillo son muy especificadas.

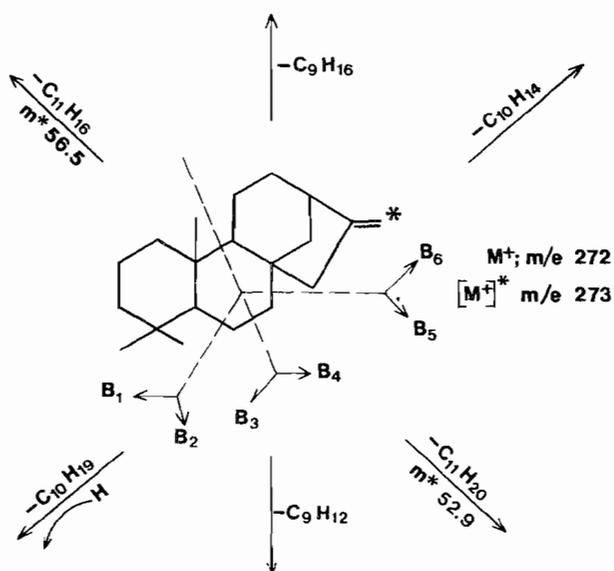
En la fig. 16 se muestra las rupturas a través de los anillos B y C y cuyos valores de ^{13}C retenidos para BC_2 (2%), BC_4 (10%), y BC_5 (7%) coinciden con los esperados para estos fragmentos. Los correspondientes a sus complementos es decir BC_1 (60%), BC_3 (75%) y BC_6 (62%) aunque en términos generales pueden considerarse como aceptables, son sin embargo relativamente bajos con respecto a los esperados (100%). Esto tal vez se pudiera explicar mediante los orígenes alternos que pueden tener estos fragmentos, como por ejemplo para BC_6 de m/e 121 se observa una transición metaestable de m/e 124 a m/e 121, $m^* 118.6$.

Las fragmentaciones a través de los anillos C y D no parecen ser muy significativas. El fragmento de m/e 159 tal vez sea uno de los más importantes ya que su retención así lo indica, sin embargo su origen no pudo ser establecido con claridad, suponemos que pudo originarse a partir del ión $[M^+ - 15]$, mediante la fragmentación AB_1 (fig. 14), desafortunadamente

B₁, m/e 124 (20)
m/e 123 (21)

B₂, m/e 148 (100)
m/e 147 (81)

B₃, m/e 138 (28)
m/e 137 (31)



B₄, m/e 133 (92)

B₅, m/e 152 (3)
m/e 151 (7)

B₆, m/e 120 (77)
m/e 119 (52)

Fig. 15

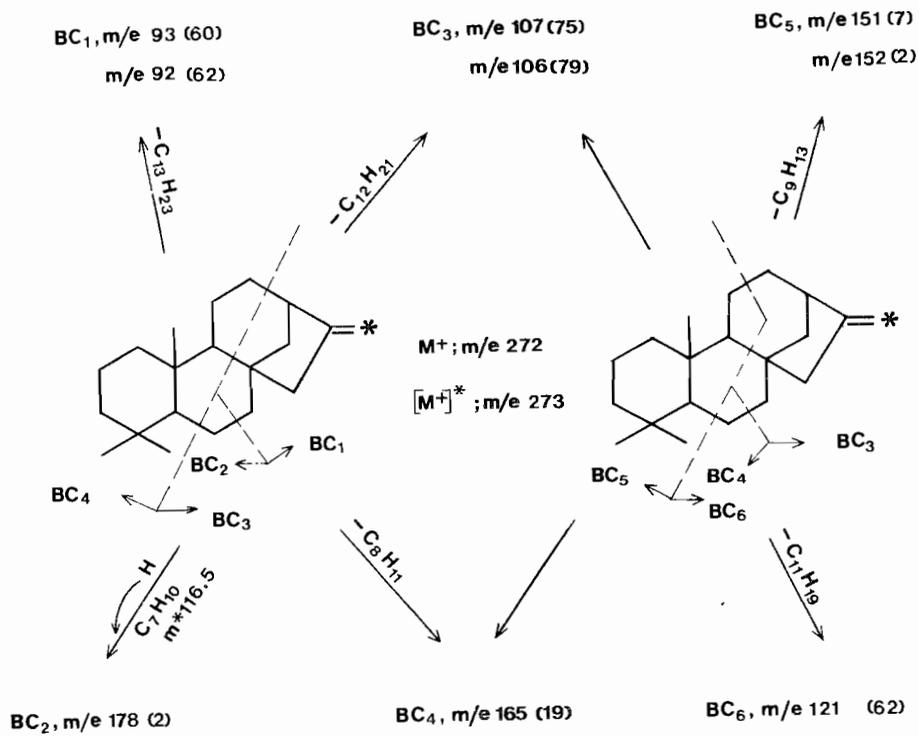


fig.16

T A B L A II

FRAGMENTOS MAS SIGNIFICATIVOS PARA:

Asignación	m/e	KAURENO			FILOCLADENO	
		I _{am}	% ¹³ C †	% ¹³ C ‡	I _{am}	% ¹³ C
M ⁺ -15	257	40	95	96	17	95
M ⁺ -28	244	5	95	94	3	63
M ⁺ -29	243	4	86	3	3	100
D ₁	230	29	30	79	8	0
M - 43	229	85	80	81	22	61
A ₁	213	8	97	97	3	100
AB ₃	203	10	67	67	3	60
A ₂	201	11	75	79	3	73
AB ₂	189	13	66	64	4	52
A ₃	187	39	93	95	10	100
BC ₂	178	3	41	27	1	2
AB ₁	175	22	90	90	8	100
BC ₄	165	2	23	36	1	10
AB ₄	161	17	47	45	5	100
	159	19	71	71	9	100
B ₅	152	-	-	-	1	3
BC ₅	151	3	11	9	3	7

Asignación	m/e	KAURENO			FILOCLADENO	
		I_{sn}	% ^{13}C †	% ^{13}C ‡	I_{sn}	% ^{13}C
B ₂	148	38	99	87	12	100
B ₃	138	6	21	19	1	28
B ₄	133	32	59	47	16	92
B ₁	124	20	32	25	7	19
BC ₆	121	27	70	77	12	62
B ₆	120	38	100	100	14	77
AB ₅	111	10	21	17	5	10
BC ₃	107	41	78	77	22	75
BC ₁	93	44	37	37	33	60

† Datos reportados⁸

‡ Datos obtenidos mediante el cálculo con el programa MPC

tunadamente no pudimos observar el metaestable correspondiente a esta transición.

De los fragmentos más significativos y que se resumen en la tabla II, podemos considerar que en estas moléculas (kaureno y filocladeno):

- 1).- La fragmentación sucesiva no es muy apreciable.
- 2).- Las fragmentaciones principales ocurren en los anillos A y B.
- 3).- Al menos a nivel de ión molecular no se observa distribución al azar de la marca.
- 4).- La diferencia principal entre la fragmentación del kaureno y filocladeno corresponde a la fragmentación del anillo D.

3-METILEN COLESTANO.

Los datos obtenidos de la computadora para este compuesto son enlistados en la tabla III.

La pérdida de 15 unidades de masa sin que el porcentaje de retención de la marca sea 100% sugiere una explicación similar a la dada para el filocladeno y kaureno, es decir una migración del doble enlace a los anillos A, B o C, de tal manera que surge de nuevo la posibilidad como en los casos anteriormente mencionados que el ión molecular no tenga una sola estructura (fig. 17).

Rupturas a través del anillo A (fig. 17).- En las fragmentacio-

T A B L A III
3-METILEN COLESTANO

m/e	I _{sn}	I _n	% ¹³ C	m/e	I _{sn}	I _n	% ¹³ C
53	10.3	7.6	25.6	81	74.4	62.8	00.0
54	3.4	6.0	1.0	82	12.8	23.2	78.4
55	78.6	70.2	10.8	83	26.4	40.1	70.4
56	12.8	15.4	46.2	84	4.3	7.3	67.2
57	28.6	62.8	2.9	85	6.0	21.7	13.4
58	2.5	4.5	0.0	91	41.9	29.9	17.0
65	6.0	0.0	100.0	92	11.1	11.7	23.7
66	2.6	1.0	8.1	93	68.4	33.6	45.8
67	44.4	33.3	45.1	94	24.0	30.2	100.0
68	14.5	14.1	60.1	95	81.2	61.4	89.8
69	51.3	47.3	69.0	96	9.4	34.5	100.0
70	7.7	14.7	100.0	97	15.4	37.2	24.5
71	20.5	36.0	4.9	98	1.7	6.7	24.5
72	1.7	2.6	0.0	99	1.0	8.8	6.0
77	16.2	5.5	10.1	105	64.1	28.5	55.5
78	2.6	5.5	46.4	106	35.9	42.6	80.3
79	53.0	32.2	48.2	107	74.4	49.5	93.0
80	12.0	9.6	69.0	108	31.5	45.3	87.0

m/e	I _{SB}	I _m	% ¹³ C
109	35.1	41.4	96.0
110	4.3	17.8	93.0
111	17.1	30.4	40.0
112	0.0	6.9	100.0
119	42.7	20.7	51.5
120	57.3	25.0	94.8
121	45.3	58.8	90.0
122	46.2	39.4	100.0
123	24.8	52.8	79.3
124	42.7	14.4	98.0
125	3.4	13.0	0.0
131	8.6	6.4	25.0
132	6.0	3.0	85.8
133	24.0	15.3	57.6
134	17.1	19.5	66.5
135	24.8	21.4	59.4
136	10.5	15.4	93.5
137	8.6	11.4	78.3
138	0.0	6.7	100.0
145	11.1	4.3	61.3

m/e	I _{SB}	I _m	% ¹³ C
146	6.0	5.6	100.0
147	23.2	19.8	55.1
148	9.4	16.0	89.8
149	19.7	19.5	43.7
150	4.3	10.4	57.5
151	5.1	6.1	28.1
152	2.6	4.0	0.0
159	12.8	9.4	26.9
160	6.8	15.2	0.0
161	55.6	43.5	21.8
162	22.2	29.5	21.6
163	12.8	11.5	47.4
164	3.4	4.4	50.0
165	2.6	2.7	93.7
173	8.6	2.1	75.6
174	8.6	5.8	100.0
175	15.4	16.3	54.0
176	24.8	25.3	31.7
177	13.7	17.4	30.4
178	2.6	4.0	100.0
179	1.7	4.5	0.0

m/e	I _{SB}	I _c	% ¹³ C
187	5.2	3.2	38.6
188	4.3	3.7	60.3
189	9.4	10.0	21.2
190	6.0	4.2	63.1
191	2.6	4.7	62.7
192	1.7	0.0	100.0
201	6.0	5.2	13.2
202	7.7	4.1	56.5
203	42.7	51.4	0.0
204	12.0	14.8	0.0
205	3.4	0.5	8.0
206	4.3	0.3	7.0
207	1.7	1.4	87.9
215	12.9	3.4	73.4
216	4.1	8.9	100.0
217	4.1	8.9	0.0
229	39.3	4.0	94.5
230	27.4	34.5	100.0
231	13.7	27.0	100.0
232	4.3	13.3	100.0
233	1.0	6.6	0.0

m/e	I _{SB}	I _c	% ¹³ C
244	14.5	0.0	100.0
245	6.0	12.7	100.0
246	1.0	6.7	93.0
247	4.3	4.5	42.7
248	1.9	2.9	0.0
260	1.7	1.8	0.0
261	1.5	1.0	44.1
262	2.5	2.3	2.5
263	1.0	1.1	14.7
270	1.0	1.3	0.0
271	13.7	1.0	92.9
272	2.6	11.6	100.0
273	1.0	5.1	0.0
274	6.8	6.7	2.3
275	5.1	4.3	1.9
287	4.3	5.1	0.0
288	2.6	1.7	33.0
299	3.5	0.0	100.0
300	1.4	3.0	57.1
301	11.0	12.0	0.0

m/e	I _{sm}	I _m	% ¹³ C
302	3.4	4.3	0.0
303	1.4	0.5	72.3
314	8.6	8.9	0.0
315	12.8	16.2	0.0
316	62.4	53.5	14.3
317	17.1	19.2	40.1
318	1.7	4.9	100.0
327	6.0	2.4	60.2
328	23.1	28.3	0.0
329	12.8	10.3	19.4
330	5.1	6.0	32.4

m/e	I _{sm}	I _m	% ¹³ C
369	21.4	1.2	94.5
370	7.7	19.7	100.0
371	0.0	8.2	100.0
384	100.0	0.0	100.0
385	32.7	89.3	100.0
386	6.2	32.2	100.0
387	0.0	7.5	100.0

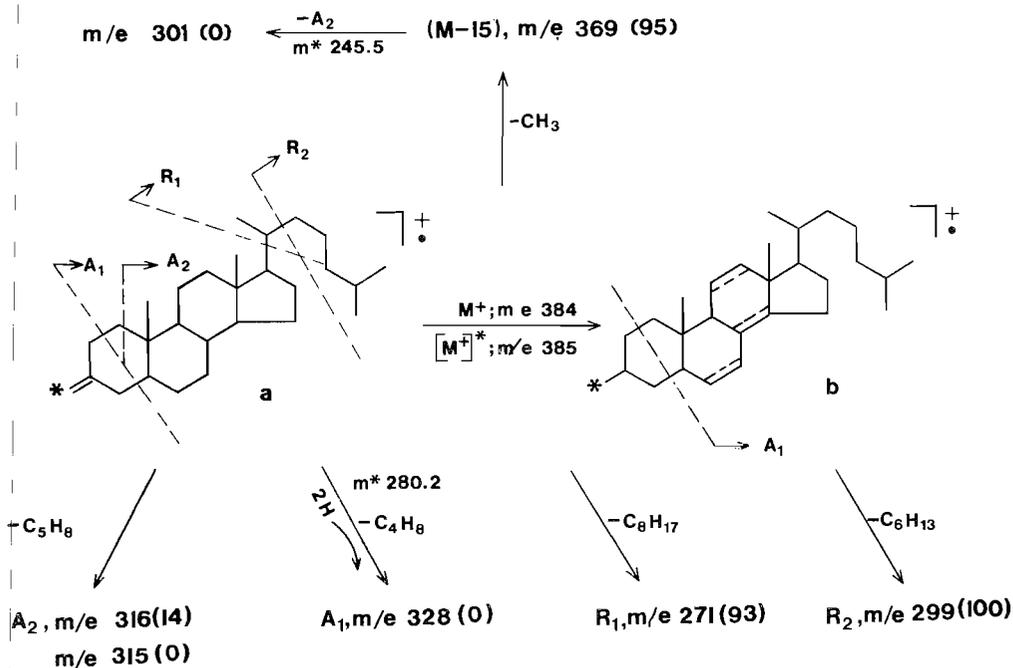


Fig. 17

nes nominadas A_1 y A_2 se observa una eliminación específica de la marca, lo cual era de esperarse, ya que tales rupturas son muy favorecidas. Así para el caso de A_1 son rupturas beta doble enlace, lo cual está completamente de acuerdo con las reglas empíricas de fragmentación³⁹ y para el caso de A_2 incluye un átomo de carbono cuaternario y otro terciario. También en esta figura observamos las rupturas R_1 y R_2 las cuales tie-

nen una retención específica de la marca, que también coincide con lo esperado.

Rupturas a través del anillo B.- Las fragmentaciones en este anillo son sumamente específicas (fig. 18) como lo muestran las altas retenciones de marca encontradas para los fragmentos B₁ (93%), B₃ (100%)

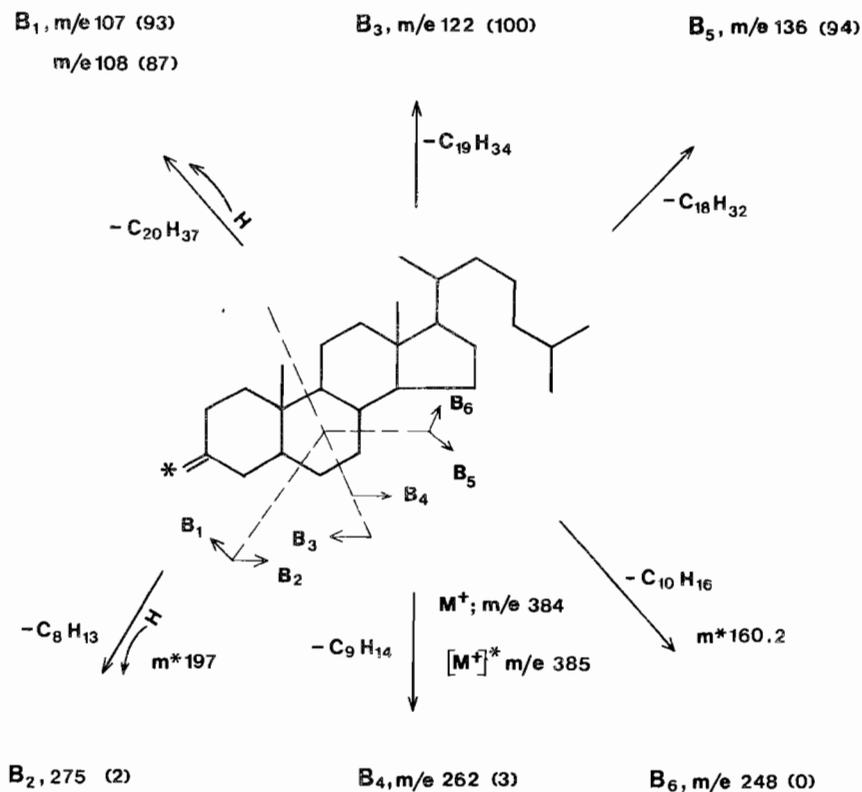


fig.18

y B₅ (94%) y la pérdida casi total de ¹³C por los fragmentos complementarios B₂ (2%), B₄ (0.0%) y B₆ (0.0%) lo cual está completamente de acuerdo con lo esperado para estos fragmentos.

Rupturas del anillo C.- Para el fragmento C₁ de m/e 162 (22%) (fig. 19) la retención de la marca es muy pequeña con respecto a lo que se esperaría (100%), además de no encontrarse su complementario (el fragmento de m/e 222). Esto podría ser explicado si consideramos que el fragmento C₁ tiene orígenes alternos aparte del mostrado en la fig. 19, como puede ser el originado por la fragmentación sucesiva de D₁ (con transferencia de hidrógeno) y A₂ (donde perdería la marca completamente) para formar parte del ión de m/e 162 como lo muestra su correspondiente metaestable de m* 114.6. Por el porcentaje de ¹³C encontrado en este ión podemos suponer que la fragmentación C₁ no es la principal contribuyente en la formación del fragmento de m/e 162. En el mismo caso se encuentra el fragmento C₂ donde la retención de la marca también es pequeña, m/e 173 (32%). El origen alternativo de este fragmento es la combinación de las rupturas D₁ y A₁, dando origen a un fragmento de m/e 176 pero sin marca y que posiblemente contribuya también en mayor proporción que C₂. El fragmento denominado C₃ de m/e 190 (33%) tiene una retención de marca relativamente mayor que difiere apreciablemente con respecto a C₁ y C₂, lo cual es explicable ya que C₃ es originado por la fragmentación de dos enlaces considerados débiles y con alta probabilidad de ruptura.

En resumen podemos decir que las rupturas sobre el anillo C se superponen con otras fragmentaciones, que en este caso son sucesivas y no muy comunes en estas moléculas.

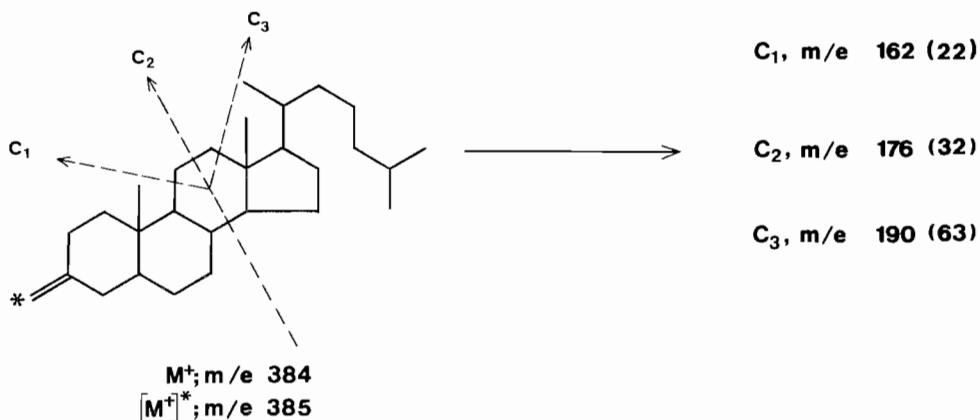


Fig. 19

Fragmentaciones en el anillo D.- Los fragmentos D_1 y D_2 que son fragmentos cuya formación es característica de este tipo de compuestos⁴⁰ presentan una retención específica de la marca que corresponde a lo esperado ya que también incluyen rupturas de enlaces considerados como débiles (fig. 19 b).

Un fragmento interesante y que por su intensidad relativa (11%) es importante mencionarlo es el ión de m/e 301 con pérdida total de la marca. Este fragmento proviene de una fragmentación sucesiva del ión $(M^+ - 15) - A_2$ como lo muestra su correspondiente metaestable a $m^* 245.5$.

Rupturas a través de los anillos A y B.- A diferencia del fi-

T A B L A IV

FRAGMENTOS MAS SIGNIFICATIVOS DE 3 METILEN COLESTANO

Asignación	m/e	I _{rel}	% ¹³ C
M ⁺ -15	369	21	94
A ₁	328	23	0
A ₂	316	62	14
	315	13	0
S ₁	301	11	0
R ₂	299	3	100
AB ₁	287	5	0
B ₂	275	6	2
R ₁	271	14	93
B ₄	262	3	3
	260	2	0
B ₅	248	2	0
D ₂	244	15	100
D ₁	229	40	95
C ₃	190	6	63
C ₂	176	25	32
C ₁	152	22	22
B ₅	136	11	94
B ₃	122	46	100
B ₁	107	75	93

locladeno y kaureno que presentan mayor número de fragmentaciones a través de estos dos anillos, en el 3-metilen colestano no son muy frecuentes, una de ellas es la fragmentación AB_1 con una pérdida total de la marca, sin embargo el origen estructural de este fragmento no es muy claro ya que puede provenir de las dos estructuras del ión molecular (fig. 17), si proviene de a tendrá que haber pérdida o transferencia de los hidrógenos (no fue posible detectar la transición metaestable correspondiente al proceso de m/e 289 a m/e 287) o bien de una estructura alterna b en donde ha habido un rearrreglo y el doble enlace ha emigrado a otra posición.

En conclusión podemos decir que la distribución al azar de la marca no se presenta a nivel de ión molecular y las principales fragmentaciones observadas y que están resumidas en la tabla IV con sus orígenes probables ocurren en las uniones predeciblemente más débiles y especialmente donde existe la posibilidad de estabilización del fragmento mediante la formación de un nuevo enlace.

Estas fragmentaciones en general son específicas, sin embargo ya presenta esta molécula algunas fragmentaciones sucesivas significativas a diferencia de el caso del kaureno y filocladeno.

TETRAHIDRO CAFEST-17-ENO.

Los datos obtenidos para el cafestano se muestran en la tabla V. En la pérdida de un metilo (15 una) una vez más encontramos que el

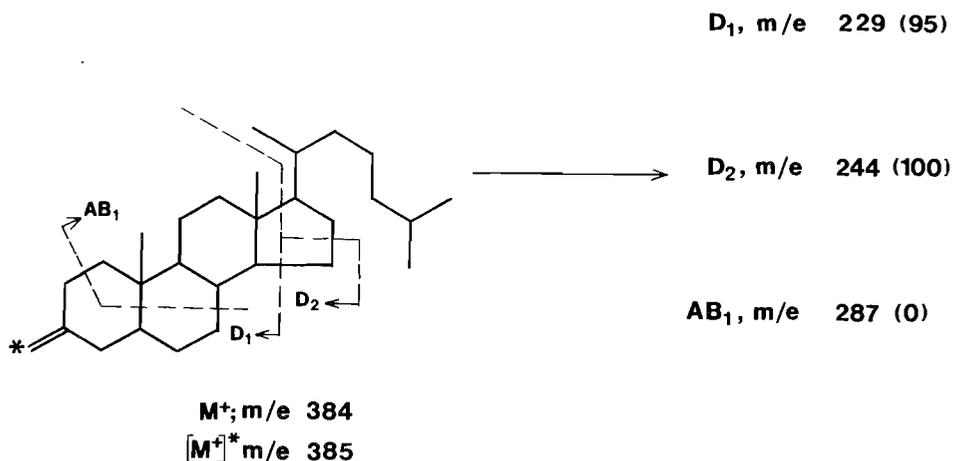


Fig. 19 b

fragmento de m/e 271 no se encuentra totalmente marcado con lo que se viene a reforzar la suposición de que el doble enlace haya emigrado a otra posición de la molécula, como en los casos anteriormente descritos para kaureno, filocladeno y 3 metilen colestano. Otro fragmento que es explicable únicamente en función de este rearrreglo en el anillo D es el D₁ de m/e 243 (0.0 %) donde encontramos una pérdida total de la marca (notar la discrepancia con el kaureno) fig. 20.

Rupturas en el anillo A.- Para las fragmentaciones A₁ y A₂, los porcentajes de retención de la marca son aceptables tomando en cuenta la probabilidad de las rupturas, sin embargo en el caso de la ruptura A₃ el porcentaje de retención lo podemos considerar un poco anormal dado que en los casos anteriores (filocladeno, kaureno y 3-metilen colestano, esta ruptura entre los anillos A y B es muy específica y se lleva a cabo

T A B L A V
TETRAHIDRO CAFEST-17-ENO

m/e	I _m	I _n	% ¹³ C	m/e	I _m	I _n	% ¹³ C
51	13.3	9.1	32.2	81	82.3	10.6	24.0
52	7.4	8.2	47.6	82	14.8	7.1	100.0
53	50.4	56.6	0.0	83	41.2	20.4	7.6
54	14.8	25.5	0.0	91	78.5	46.1	38.2
55	100.0	87.0	1.3	92	23.0	42.9	22.7
56	9.6	21.2	1.5	93	42.2	47.6	72.6
57	23.7	11.8	56.4	94	11.9	33.5	0.0
65	22.2	28.7	0.0	95	19.3	16.1	13.2
66	11.8	21.7	0.0	96	19.3	18.5	32.2
67	60.7	43.0	77.3	97	5.9	10.2	46.0
68	13.3	20.4	100.0	103	7.4	2.7	9.6
69	22.2	19.0	72.7	104	6.7	2.9	23.8
70	18.6	22.3	74.6	105	45.9	27.6	100.0
71	11.9	5.5	4.6	106	11.9	33.5	29.5
77	3.0	66.9	0.0	107	25.2	26.1	96.6
78	3.0	40.3	0.0	108	8.9	18.5	0.0
79	43.9	79.1	0.0	109	13.3	10.2	14.7
80	17.8	31.4	0.0	110	4.4	2.5	11.0
				111	1.0	1.3	18.0

m/e	I _{sm}	I _n	% ¹³ C
115	10.4	0.0	100.0
116	5.9	0.5	3.0
117	17.8	6.7	56.7
118	5.9	5.5	66.8
119	27.2	23.4	72.2
120	7.4	17.3	100.0
121	10.4	12.3	45.0
122	3.7	8.7	58.0
123	4.4	8.9	25.9
124	1.5	3.4	17.9
128	5.9	0.0	100.0
129	7.4	3.1	16.7
130	4.4	4.4	39.8
131	17.0	14.8	42.5
132	6.7	5.9	46.2
133	22.2	15.9	74.7
134	8.9	8.4	74.1
135	7.4	13.2	100.0
136	5.9	9.6	70.0
137	8.9	17.1	16.7
138	3.1	3.2	9.7

m/e	I _{sm}	I _n	% ¹³ C
139	0.0	2.5	100.0
141	3.7	0.0	100.0
142	3.0	1.0	2.5
143	5.2	1.2	6.0
144	3.0	0.5	6.3
145	7.4	1.5	7.0
146	3.0	2.8	44.5
147	6.0	2.5	23.0
148	3.0	6.3	100.0
149	3.7	6.3	69.3
150	8.9	22.1	20.8
151	4.5	5.7	6.9
152	0.0	2.2	100.0
155	1.5	3.0	0.0
156	3.0	0.0	100.0
157	6.0	0.5	1.0
158	1.5	2.0	59.0
159	5.9	4.5	33.7
160	2.2	5.3	33.9
161	4.4	2.9	28.1

m/e	I _{sm}	I _m	% ¹³ C
162	3.0	1.7	29.6
163	1.5	6.9	100.0
164	1.0	1.3	32.0
165	1.0	1.9	12.0
169	1.0	2.2	0.0
170	1.0	0.5	53.6
171	2.6	1.2	73.7
172	1.0	2.6	28.9
173	2.6	2.3	23.0
174	1.1	1.2	49.2
175	3.0	0.9	66.8
176	2.6	0.0	100.0
177	0.0	1.7	1.2
183	1.6	0.5	4.2
184	1.0	0.5	9.6
185	2.9	9.1	19.1
186	1.0	1.5	71.7
187	1.9	1.3	56.5
188	1.6	2.8	64.6
189	1.6	1.6	37.2
190	0.5	1.5	100.0
191	0.3	1.1	55.7

m/e	I _{sm}	I _m	% ¹³ C
197	1.6	0.4	71.3
198	0.6	0.5	9.1
199	1.6	4.9	0.0
200	0.6	2.1	0.0
201	1.1	0.6	17.1
202	1.3	0.0	100.0
203	1.6	1.2	0.0
204	1.3	0.5	64.1
211	0.6	1.0	0.0
212	0.8	0.9	2.2
213	1.2	0.5	56.8
214	0.6	1.0	55.3
215	2.3	1.8	88.4
216	0.6	1.0	37.2
217	0.6	1.0	44.2
225	1.3	2.3	0.0
226	1.0	0.9	11.5
227	8.8	7.2	80.2
228	1.9	4.0	0.0
229	2.3	0.4	86.9
230	1.0	0.9	98.0

m/e	I_{sm}	I_m	$\% \text{ }^{13}\text{C}$
241	1.3	0.0	100.0
242	2.3	1.3	100.0
243	7.4	9.9	0.0
244	2.3	2.6	0.0
245	0.8	1.0	0.0
271	2.6	0.3	93.7
273	0.6	2.5	93.7
27	0.0	0.6	100.0

m/e	I_{sm}	I_m	$\% \text{ }^{13}\text{C}$
286	3.2	0.0	100.0
287	1.3	3.6	100.0
288	0.3	0.8	100.0
289	0.0	0.3	100.0

con alta retención de la marca. La causa de que este tipo de ruptura no sea tan específica en el caso del tetrahidrocafesteno, pudiera ser la labilidad mostrada por el enlace formado por los carbonos C_{5-10} cuando tienen una función oxigenada en la posición "3" (ya sea eter o cetal), tal como lo predicen las reglas empíricas de fragmentación para estos casos.⁴¹ suponiendo una fragmentación como la muestra la figura 21, tenemos un posible origen del fragmento de m/e 109 que tiene una pérdida relativa de la marca que sin embargo tampoco es específica, por lo cual debemos suponer que este origen no es el único para el fragmento de m/e 109.

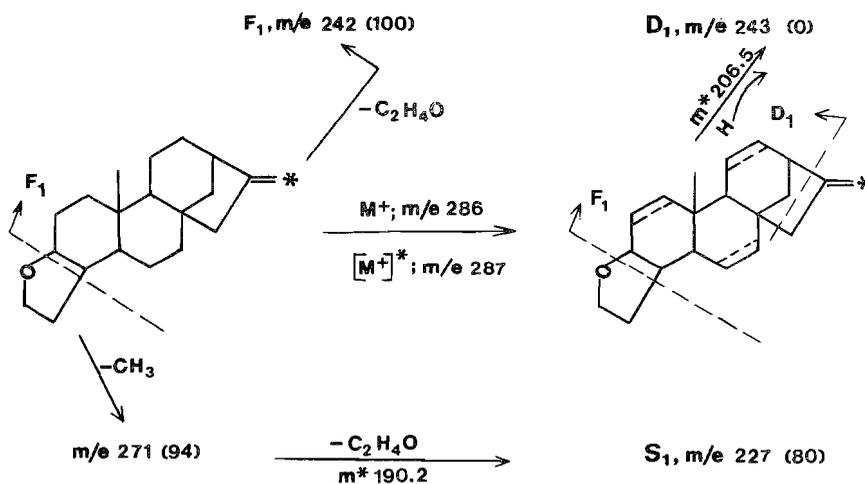


fig. 20

Fragmentación del anillo B.- Las rupturas en este anillo ya muestran mayor especificidad (fig. 22), puesto que los porcentajes de retención de ^{13}C son considerablemente altos en los iones B_2 (100%), B_4 (74%) y B_6 (100%) y muy bajos en sus complementos B_1 (17%), B_3 (7%) B_5 (12%). Se observa que la ruptura del enlace C_5-C_{10} (fig. 21) no afec-

ta de una manera determinante al anillo B (aparentemente solo el fragmento de m/e 165 tiene un doble origen como lo es BC_6 y B_6 (fig. 23), ya que aún considerando al ión molecular con las diferentes estructuras mostradas en la fig. 20 las fragmentaciones a través del anillo B seguirán siendo probables.

En conclusión podemos decir que a través de este anillo se observan las fragmentaciones más específicas.

Las fragmentaciones a través de los anillos C y D y A y B fig. 23 y 24 respectivamente no muestran una retención o pérdida específica de la marca, además de ser fragmentos poco intensos y de que algunos fragmentos complementarios no se observan en el espectro.

Un caso muy claro de fragmentación sucesiva es el mostrado por el ión de m/e 271 que después de haber perdido 15 una sufre una ruptura (fig. 20) en el hererociclo para originar el ión m/e 227 (80%).

Podemos concluir de lo observado en este espectro que no hay gran especificidad en la fragmentación del tetrahydro cafesteno. Esto quizá se pueda deber a la presencia del heteroátomo el cual competirá con la velocidad de fragmentación del alqueno en general.

También podemos considerar que en esta molécula no hay distribución al azar a nivel de ión molecular, además es muy probable que la fragmentación sucesiva juegue un papel importante en esta molé-

cula, especialmente de los fragmentos que contienen oxígeno, sin embargo esto solo se podría establecer con claridad analizando el espectro de alta resolución, pudiendo así establecer la composición elemental de cada fragmento con certeza.

Un resumen de los principales fragmentos y sus posibles orígenes se muestran en la tabla VI.

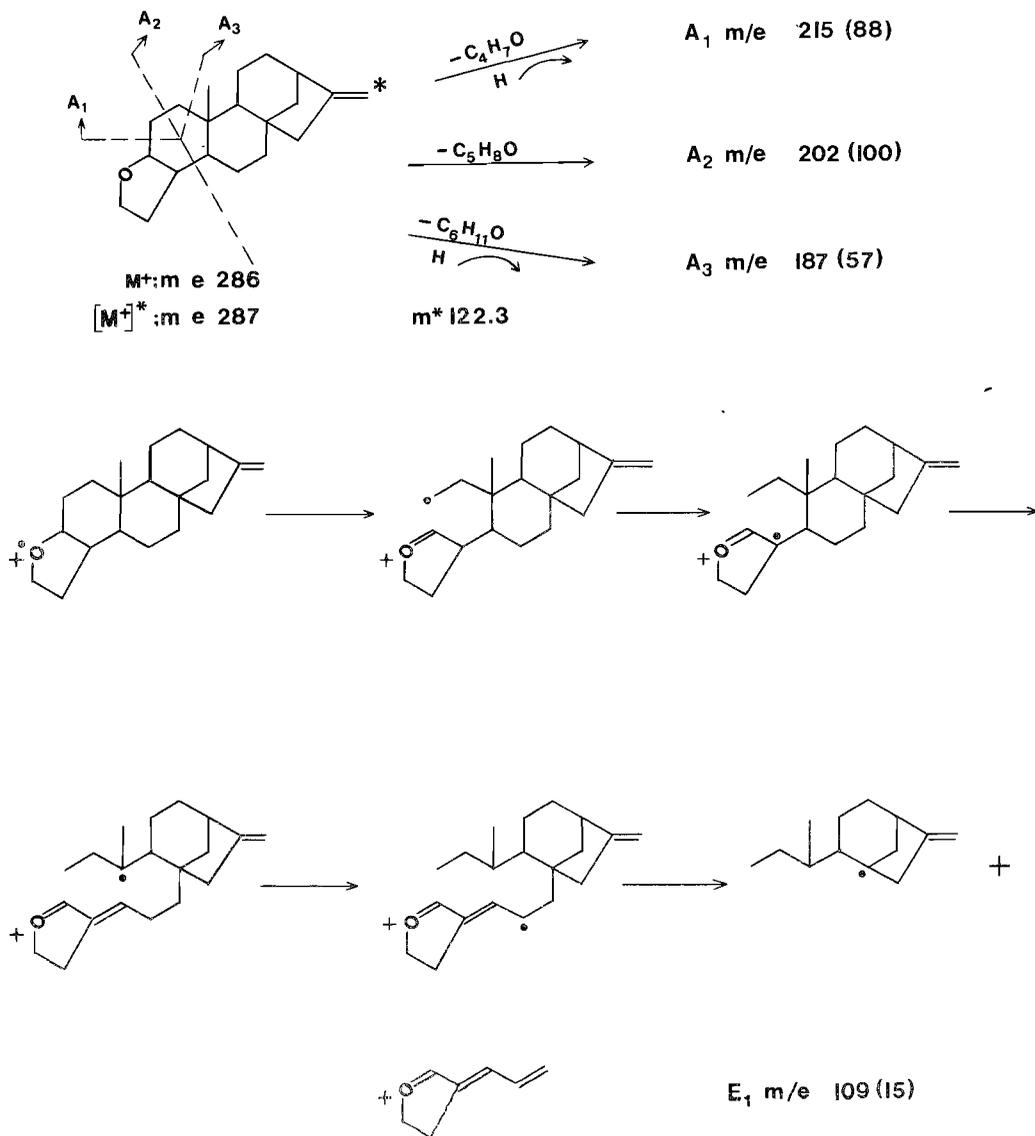


fig. 21

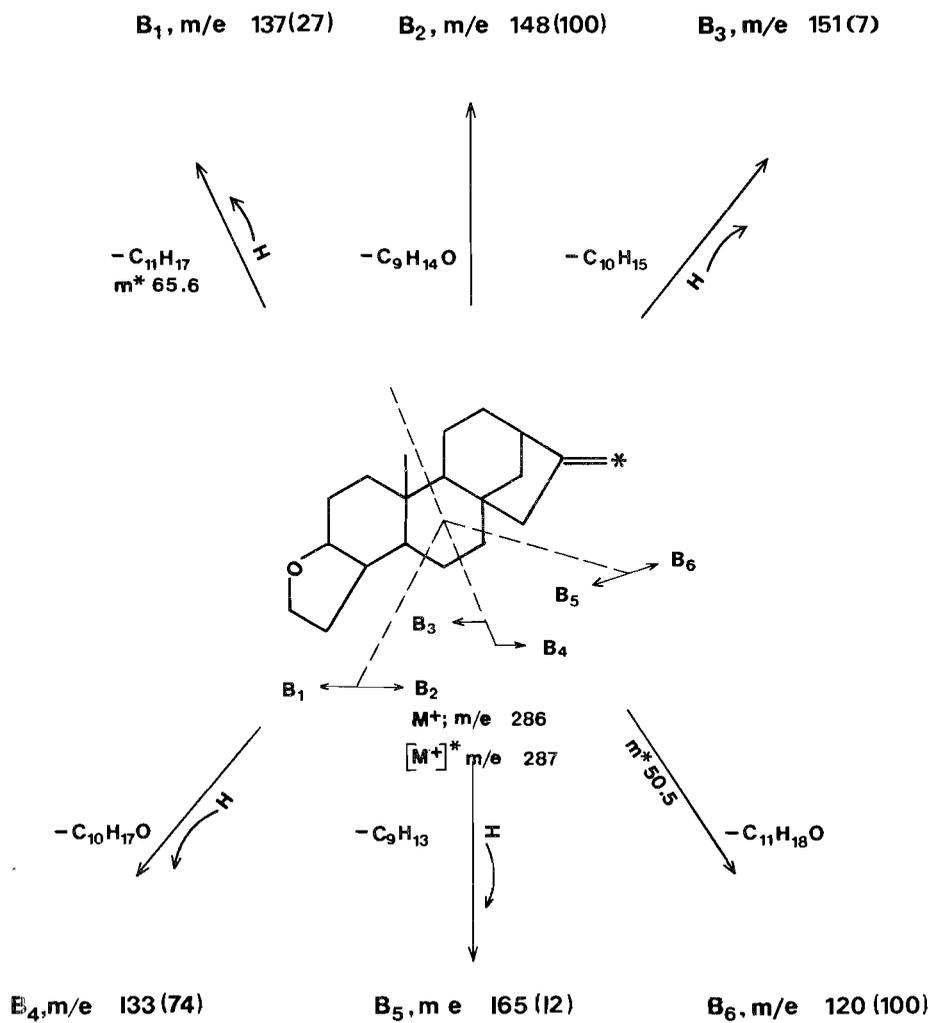


fig.22

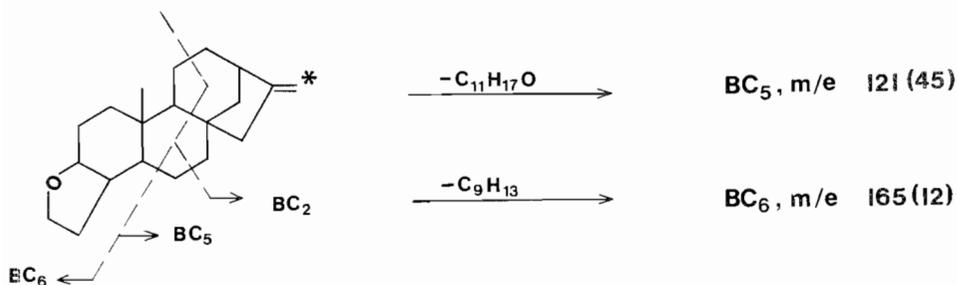
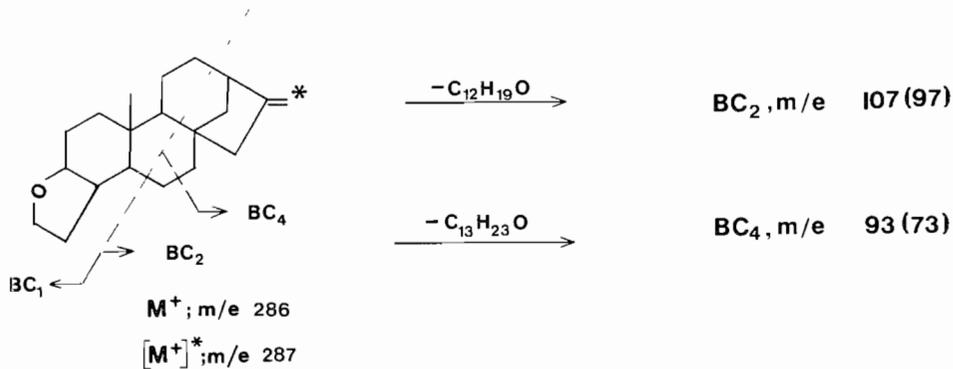


fig.23

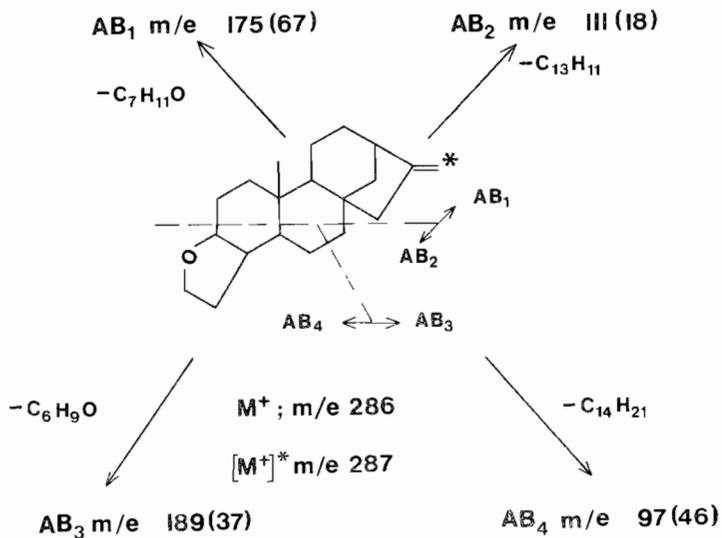


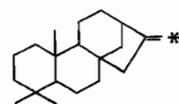
fig.24

T A B L A IV

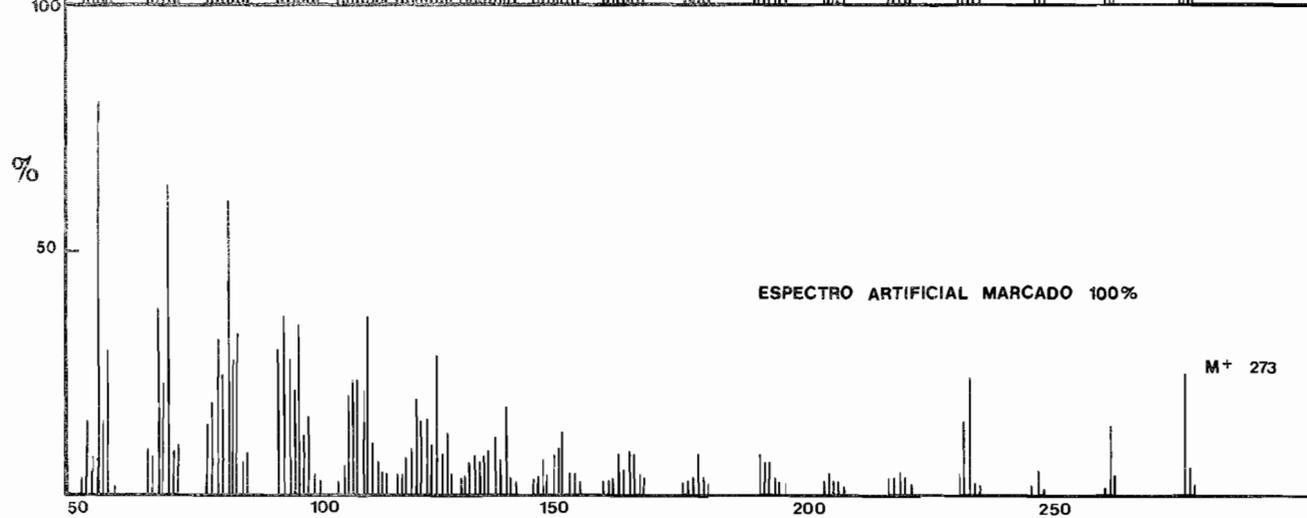
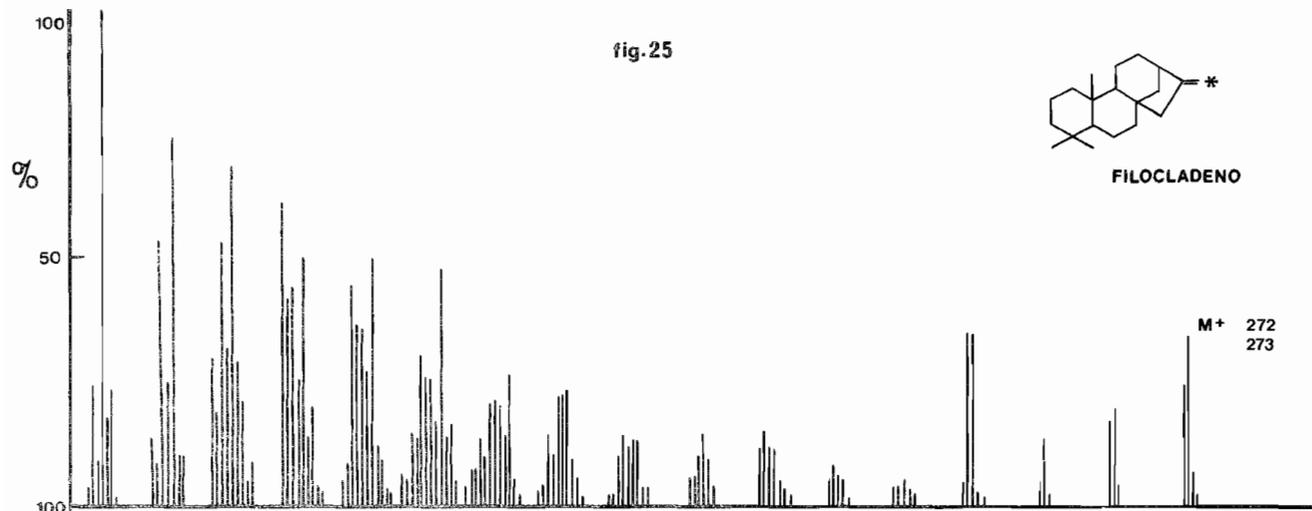
FRAGMENTOS MAS SIGNIFICATIVOS DE TETRAHIDRO CAPEST-17-ENO

M ⁺ -15	271	3	94
D ₁	243	8	0
F ₁	242	2	100
S ₁	227	8	80
A ₁	215	2	88
A ₂	202	1.5	100
AB ₃	189	2	37
A ₃	188	2	65
A ₃	187	2	57
AB ₁	175	3	67
B ₅ - BC ₅	165	1	12
B ₃	151	5	7
B ₂	148	3	100
B ₁	137	9	17
B ₄	133	23	74
BC ₅	121	10	45
B ₃	120	8	100
AB ₂	111	1	18
E ₁	109	13	15
BC ₂	107	25	37
AB ₄	97	6	46
BC ₄	93	42	73

fig.25



FILOCLADENO



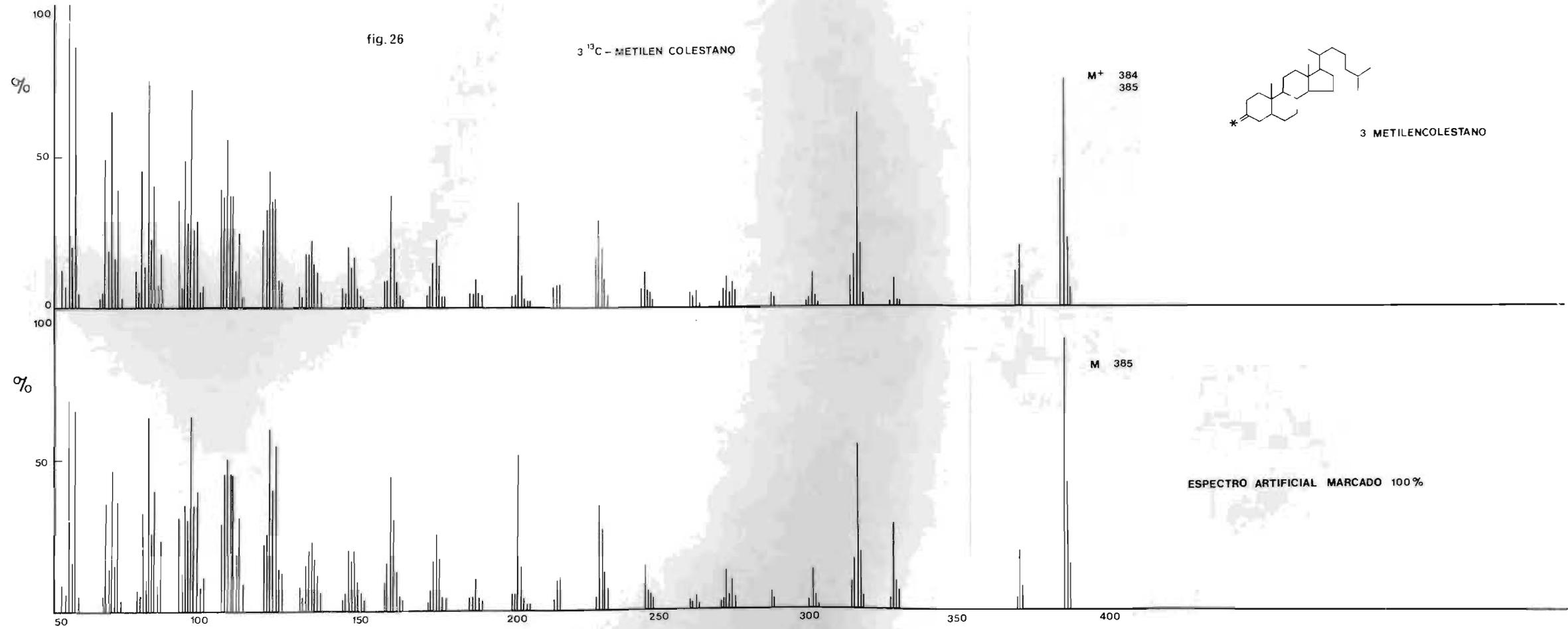
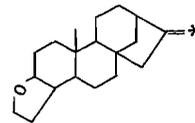
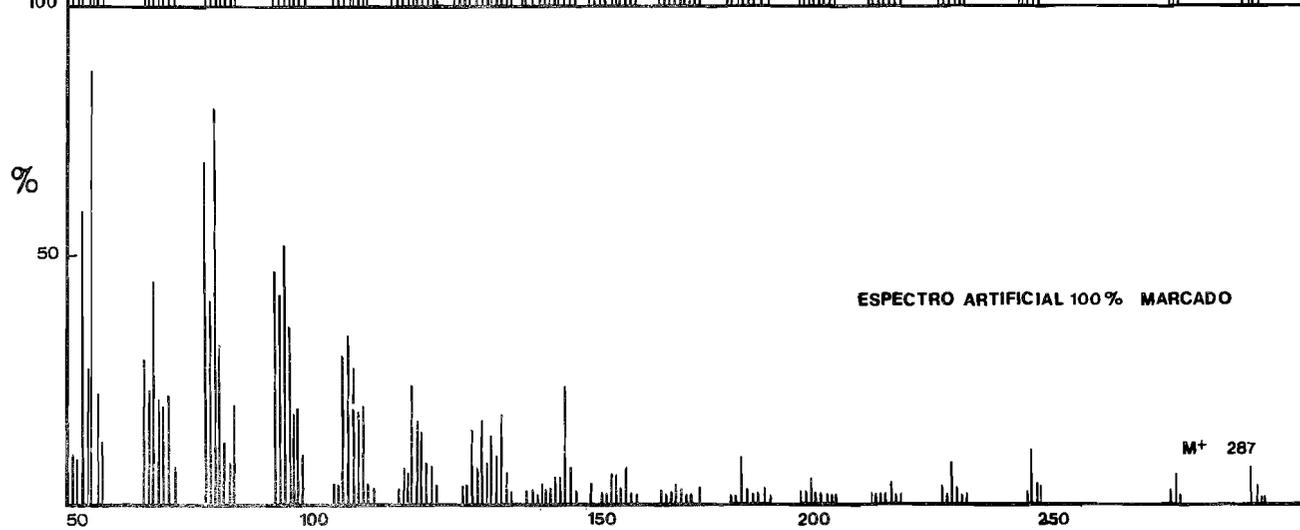
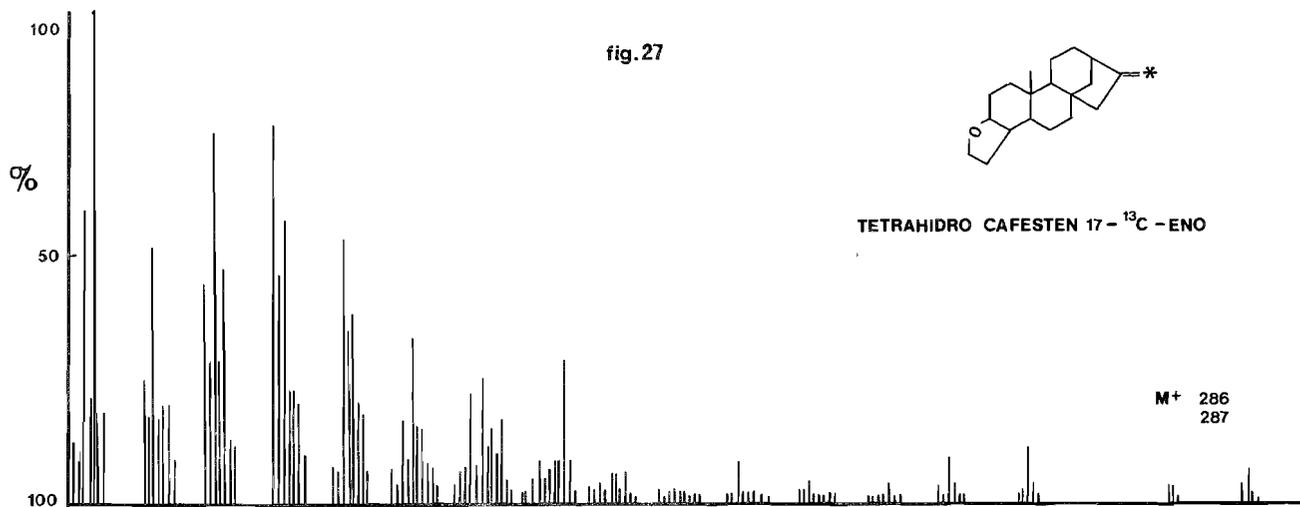


fig.27



TETRAHIDRO CAFESTEN 17-¹³C-ENO



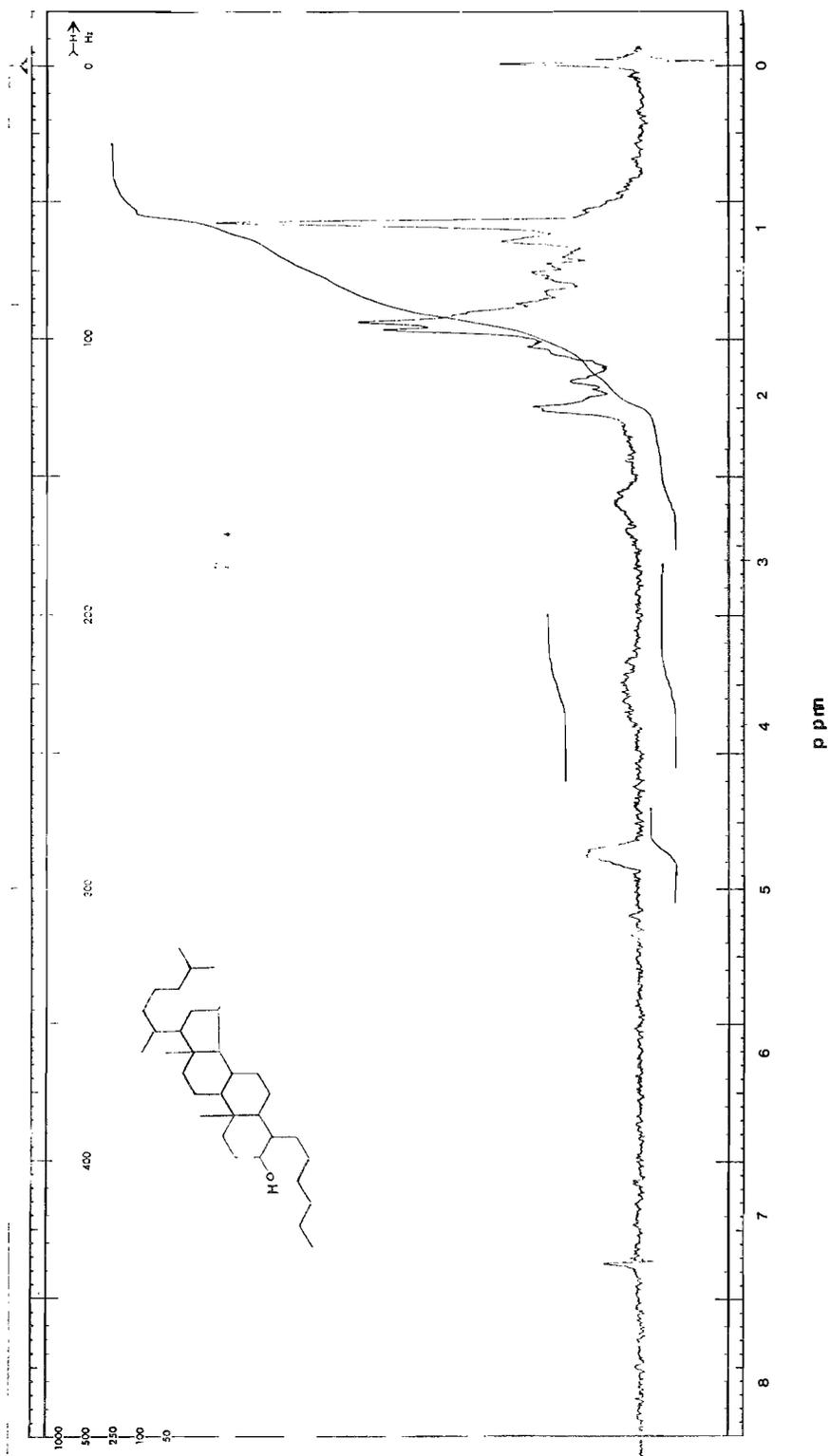


fig 28

V.- CONCLUSIONES

1.- El origen de algunos fragmentos solo se puede explicar si se acepta que el ión molecular puede sufrir transposiciones, es decir que debemos considerar que hay varias estructuras posibles para el ión molecular.

2.- Puede decirse que en general un ión puede tener varios orígenes (ver pag. 33).

3.- A pesar de lo anterior, las reglas empíricas de fragmentación tienen cierta aplicación para los casos analizados y coinciden con algunas de las fragmentaciones que dan iones intensos.

4.- Para la mayoría de las fragmentaciones no se pone en evidencia una redistribución al azar de la marca, en contra de lo que sucede en hidrocarburos y olefinas de bajo peso molecular.

5.- Se observa una diferencia en la retención de la marca al comparar los espectros de kaureno y filocladeno para algunos fragmentos. Esto puede atribuirse a la diferencia en estereoquímica. Además esto constituye una prueba de que en estos compuestos no hay redistribución al azar de la marca a nivel del ión molecular.

6.- En general se puede concluir que en moléculas de hidrocarburos insaturados, ya sea que contengan o no heteroátomos las tendencias de fragmentación son similares. Aún cuando hay fragmentaciones inducidas por el heteroátomo, la intensidad de los fragmentos ocasionados por rupturas no es muy grande y a reserva de mejorar estas apreciaciones.

nes con alta resolución no todas las fragmentaciones más importantes son inducidas por la localización de la carga en el heteroátomo. Esta puede considerarse una conclusión que no está completamente en concordancia con las teorías de localización de la carga,⁴² pero permite predecir que este tipo de moléculas también pueden someterse con provecho a un tratamiento teórico como el caso de la estrona.⁴³

7.- Se desarrolló un método de cómputo para obtener el porcentaje de marca retenido en cada fragmento. En este programa se corrige automáticamente el efecto de abundancia isotópica natural.

VI. - BIBLIOGRAFIA

- 1.- H. Budzikiewicz, C. Djerassi and D.H. Williams,
"Structure Elucidation of Natural Products by Mass
Spectrometry", Vol. 1 Cap. 2, Holden Day, San Fran-
cisco 1964.
- 2.- K. B. Wiberg and A. S. Fox, J. Amer. Chem. Soc. 85,
3487 (1963).
- 3.- K. Biemann, J. Seibl and F. Gapp, J. Amer. Chem. Soc.
83, 3795 (1961).
- 4.- S. W. Benson, "Thermochemical Kinetics: Methods for the
Estimation of Thermochemical Data and Rate Parameters"
John Wiley and Sons Inc. New York, 1968.
- 5.- K. Biemann, P. Bommer, and D.M. Desiderio,
Tetrahedron Lett. 1725 (1964).
- 6.- H. S. Hertz, R.A. Hiles and K. Biemann, Analyt. Chem.
43, 681 (1971).
- 7.- P. C. Jurs, Analyt. Chem. 43, 22 (1971).
- 8.- F. García and R. I. Reed, Rev. Lat. Quím. 6, 175
(1975).
- 9.- D. P. Stevenson, J. Chem. Phys. 19, 17 (1951).

10. - P. N. Rylander, S. Meyerson, J. Amer. Chem. Soc.
78, 5799 (1956).
11. - I. Horman, N.H. Yeo and D. H. Williams, J. Amer. Chem.
Soc. 92, 2131 (1970).
12. - W. O. Perry, J. H. Beynon, W. E. Batinger, J. W. Amy,
R.M. Caprioli, R.R.N. Renaud, L.C. Leith and S.
Meyerson, J. Amer. Chem. Soc. 92, 7236 (1970).
13. - R.G. Cooks and S. L. Bernasek, J. Amer. Chem. Soc. 92,
2129 (1970).
14. - P. N. Rylander, S. Meyerson and H. M. Grubb. J. Amer.
Chem. Soc. 79, 842 (1957).
15. - A. S. Siegel, J. Amer. Chem. Soc. 92, 5277 (1970).
16. - A. S. Siegel, J. Amer. Chem. Soc. 96, 1251 (1974).
17. - F. W. McLafferty and J. Winkler, J. Amer. Chem. Soc.
96, 5182 (1974).
18. - C. Koppel, H. Schwarz and F. Bohlmann, Org. Mass
Spectrom. 9, 332 (1974).
19. - Mass Spectrometry. MTD International Review of Science,

- Physical Chemistry, series one, Vol. 5, Butterworths
London, 1972.
- H. B. Rosenstock, M. B. Wallestein, A. L. Wahrafting,
and H. Eyring, Proc. Nat. Acad. Sci. 38, 667 (1952).
- 20.-M.S.H. Lin and A. G. Harrison, Can. J. Chem. 52,
1813 (1974).
- 21.-P. C. Jurs and T. L. Isenhour, "Chemical Applications
of Pattern Recognition", John Wiley and Sons. London 1975.
- 22.-J. R. Chapman, Chem. in Britain, 5, 563 (1969).
- 23.-A. M. Duffield, A. V. Robertson, C. Djerassi, B. G.
Buchanan, G. L. Sutherland, E. A. Feigenbaun and J.
Lederberg, J. Amer. Chem. Soc. 91, 2977 (1969).
- 24.-L. R. Crawford and J. D. Morrison, Analyt. Chem., 41,
994 (1969).
- L. R. Crawford and J. D. Morrison, Ibid 43, 1790 (1971).
- 25.-J. Lederberg, G. L. Sutherland, B. C. Buchanan, E. A.
Feigenbaun, A. V. Robertson, A. M. Duffield, and C.
Djerassi, J. Amer. Chem. Soc. 91, 2973 (1969).
- 26.-R. G. Dromey, B. G. Buchanan, D. H. Smith, J.

- Lederberg and C. Dejerassi, J. Org. Chem. 40, 770
(1975).
- 27.-M. Senn, R. Venkataraghavan and F. W. McLafferty,
J. Amer. Chem. Soc. 88, 5593 (1963).
- 28.-D. H. Smith, Analyt. Chem. 44, 536 (1972).
- 29.-N. A. Milas and S. Sussman, J. Amer. Chem. Soc. 58,
1302 (1936).
R. Daniels and J. L. Ficher, J. Org. Chem. 28, 320
(1963).
- 30.-W. Bottomley, A. R. H. Cole and W. E. White.
J. Chem. Soc. 2625 (1955).
- 31.-F. Sondheimer and R. Mechoulam, J. Amer. Chem. Soc.
79, 529 (1957).
- 32.-K. H. Slotta und K. Neisser, Ber. 71, 1991 (1938).
- 33.-P. N. Chakravorty, M. M. Wesner and R. H. Levin,
J. Amer. Chem. Soc. 65, 929 (1943).
- 34.-H. P. Kaufmann und A. K. Sen Gupta, Fette Seifen Einschl
Anstrichmittel, 65, 529 (1963).
- 35.-R.A. Finnegan, J. Org. Chem. 26, 3057 (1961).

- 36.- R. D. Haworth, A.H Jubb and J. Mckenna, J. Chem. Soc. 1983 (1955).
- 37.- "Aplicación de la Teoría de los Orbitales Moleculares a la Predicción de Fragmentaciones", R. Castillo, M. Rubio y F. García, XI Congreso Mexicano de Química Pura y Aplicada, Guanajuato, Gto. 1976.
- 38.- D. H. Smith, B. G. Buchanan, W. C. White, E. A. Feigenbaum, J. Lederberg and C. Djerassi, Tetrahedron, 29, 3117 (1973).
- 39.- J. H. Beynon, "Mass Spectrometry and its Application to Organic Chemistry", Elsevier Publishing Co., Amsterdam 1970.
- 40.- H. Budzikiewicz, C. Djerassi and D. H. Williams, "Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry", Vol. 2 pag. 97 Holden Day, San Francisco 1964.
- 41.- H. Budzikiewicz, C. Djerassi and D. H. Williams, "Mass Spectrometry of Organic Compounds" . Pag. 266 Holden Day Sn. Francisco 1967.
- 42.- H. Budzikiewicz, C. Djerassi and D.H. Williams. "Mass Spectrometry of Organic Compounds", Pag. 9.

Holden Day Sn. Francisco, 1967.

- 43.-G. Loew, M. Chadwick and D. Smith. Org. Mass.
Spectrom. 7, 1241 (1973).