

Małgorzata Kaczorowska

Zastosowanie metod tandemowej spektrometrii mas do badań układów supramolekularnych



Wydawnictwa Uczelniane
Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego
w Bydgoszczy

Małgorzata Kaczorowska

Zastosowanie metod tandemowej spektrometrii mas do badań układów supramolekularnych



Wydawnictwa Uczelniane
Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego
w Bydgoszczy

OPINIODAWCA

dr hab. Jerzy P. Łukaszewicz, prof. UMK
prof. dr hab. Grzegorz Schroeder

REDAKTOR DZIAŁOWY

dr hab. Jacek Szymura, prof. UTP

Opracowanie redakcyjne i techniczne
mgr Aleksandra Górka, mgr inż. Daniel Morzyński

Projekt okładki
mgr inż. Daniel Morzyński

© Copyright

Wydawnictwa Uczelniane Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego
Bydgoszcz 2012

ISBN 978-83-61314-27-1

Wydawnictwa Uczelniane Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego
Redaktor Naczelny

prof. dr hab. inż. Józef Flizikowski
ul. Ks. A. Kordeckiego 20, 85-225 Bydgoszcz, tel. 52 3749482, 52 3749426
e-mail: wydawucz@utp.edu.pl <http://www.wu.utp.edu.pl>

Wyd. I. Nakład 100 egz. Ark. aut. 8,4. Ark. druk. 8,2. Zamówienie nr 28/2012
Oddano do druku i druk ukończono grudniu 2012 r.
Zakład Małej Poligrafii UTP Bydgoszcz, ul. Ks. A. Kordeckiego 20

SPIS TREŚCI

Wykaz ważniejszych skrótów, akronimów i symboli.....	5
1. Wprowadzenie	7
2. Uzasadnienie podjęcia badań.....	11
3. Zakres pracy i metodyka badań	13
3.1. Odczynniki i sposób przygotowania próbek.....	13
3.2. Spektrometria mas i tandemowa spektrometria mas.....	14
4. Zastosowanie metod ECD, EDD i CID tandemowej spektrometrii mas do badania struktury jonów poliamidoaminowych dendrymerów PAMAM....	17
5. Badanie struktury kompleksów jonów metali: Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} z dendrymerami poliamidoaminowymi PAMAM za pomocą metod CID i ECD MS^2	31
6. Charakterystyka polifosfoestrów przy wykorzystaniu metod CID i ECD tandemowej spektrometrii mas	44
7. Analiza budowy trójjądrowych kompleksów metali zawierających mostki karboksylowe, oraz centralny atom tlenu, o wzorze $[\text{M}_3\text{O}(\text{O}_2\text{CR})_6\text{L}_3]^+$, przy użyciu metod CID i EID tandemowej spektrometrii mas.....	54
8. Badanie struktury oktaetyloporfiryny oraz jej kompleksu z żelazem za pomocą techniki EID MS^2	63
9. Analiza budowy kompleksów metalo-supramolekularnych przy użyciu metod tandemowej spektrometrii mas: ECD, CID i IRMPD MS^2 i MS^3	70
10. Zastosowanie metody CID tandemowej spektrometrii mas do badania struktury dwóch typów kompleksów wanadu(V): alkoksylowych oraz zawierających cząsteczkę kwasu dikarboksylowego.....	83
11. Podsumowanie.....	94
Literatura.....	97
Streszczenia	126

WYKAZ WAŻNIEJSZYCH SKRÓTÓW, AKRONIMÓW I SYMBOLI

BIRD	– fragmentacja promieniowaniem podczerwonym z ciała czarnego (<i>Blackbody Infrared Radiative Dissociation</i>)
CI	– jonizacja chemiczna (<i>Chemical Ionization</i>)
CID	– fragmentacja przez zderzenia (<i>Collision Induced Dissociation</i>)
DIOS	– desorpcja/ionizacja na porowatym krzemie (<i>Desorption/ Ionization on Porous Silicon</i>)
ECD	– dysocjacja spowodowana wychwytem elektronu (<i>Electron Capture Dissociation</i>)
EDD	– dysocjacja spowodowana oderwaniem elektronu (<i>Electron Detachment Dissociation</i>)
EED	– dysocjacja spowodowana wzbudzeniem elektronowym (<i>Electronic Excitation Dissociation</i>)
EI	– jonizacja elektronami (<i>Electron Impact</i>)
EID	– dysocjacja indukowana elektronami (<i>Electron Induced Dissociation</i>)
EIEIO	– dysocjacja jonów organicznych indukowana elektronami (<i>Electron Induced Excitation of Ions from Organics</i>)
ESI	– jonizacja przez rozpylanie w polu elektrycznym, elektrorozpylanie/elektrosprej (<i>Electrospray Ionisation</i>)
FT-ICR	– cyklotronowy rezonans jonowy z transformacją Fouriera (<i>Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance</i>)
HECD	– dysocjacja spowodowana wychwyceniem elektronu o wyższej energii (<i>Hot Electron Capture Dissociation</i>)
IRMPD	– fragmentacja wielofotonowa promieniowaniem podczerwonym (<i>Infrared Multiphoton Dissociation</i>)
MALDI	– jonizacja laserem wspomagana matrycą (<i>Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization</i>)
MeOEPs	– metalo-oktaetyloporfiryny (<i>Metallo-octaethylporphyrins</i>)
MS	– spektrometria mas (<i>Mass Spectrometry</i>)
MS/MS	– tandemowa spektrometria mas (<i>Tandem Mass Spectrometry</i>)
MS ² , MS ³	– tandemowa spektrometria mas, cyfra 2 oznacza że przeprowadzono fragmentację wyizolowanego jonu, cyfra 3 oznacza że wyizolowany jon został poddany fragmentacji, po czym jon potomny powstający w tym procesie poddano kolejnemu procesowi fragmentacji
m/z	– stosunek wartości masy do liczby ładunków jonu
OEP	– oktaetyloporfiryne (<i>Octaethylporphyrin</i>)
PAMAM	– dendrymer poliamidoaminowy (<i>Polyamidoamine dendrimer</i>)
PPEs	– polifosfoestry (<i>Polyphosphoesters</i>)

- SELDI – desorpcja/ionizacja z wykorzystaniem modyfikowanych powierzchni (*Surface-Enhanced Laser Desorption/Ionization*)
- SID – dysocjacja indukowana na powierzchni (*Surface Induced Dissociation*)
- SORI-CID – dysocjacja indukowana długotrwałym oddziaływaniem z cząsteczkami gazów obojętnych (*Sustained off-Resonance Irradiation Collision Induced Dissociation*)

1. WPROWADZENIE

Tandemowa spektrometria mas – oznaczana symbolem MS/MS lub MS² – jest techniką polegającą na przeprowadzeniu kontrolowanego rozpadu jonów badanego związku chemicznego na fragmenty i analizie masy powstających jonów fragmentacyjnych (dokładnie: stosunku masy jonów do ich ładunku; m/z) [1].

Metoda MS/MS była stosowana początkowo przede wszystkim do identyfikacji oraz ustalania struktury prostych związków chemicznych. Dostarczała szczegółowych informacji o budowie i rodzaju jonów fragmentacyjnych oraz sposobie ich powiązania [2]. Wprowadzenie kolejnych modyfikacji w stosowanych spektrometrach oraz nowych technik jonizacji i fragmentacji doprowadziło do tego, że tandemowa spektrometria mas może być również wykorzystywana do badania bardziej złożonych zagadnień [3], między innymi związanych z termodynamiką (określenie wewnętrznej energii elektronowej, wibracyjnej) [4]. Zjonizowanie substancji jest niezbędne do przeprowadzenia jej badań za pomocą metod spektrometrii mas, a stosowane tradycyjnie metody, takie jak jonizacja elektronami EI (*electron ionization*) [5-7] czy jonizacja chemiczna CI (*chemical ionization*) [8-11] wykorzystuje się głównie w przypadku związków o stosunkowo małych masach cząsteczkowych, dlatego opracowane zostały nowe techniki, na przykład takie, w których wykorzystuje się laser. Do najbardziej znanych metod należą: jonizacja laserem wspomagana matrycą, zwana w skrócie MALDI (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization*) [12-18], desorpcja/jonizacja na porowatym krzemie, nazywana DIOS (*Desorption/ Ionization on Porous Silicon*) [19-24] oraz desorpcja/jonizacja z wykorzystaniem modyfikowanych powierzchni, tzw. SELDI (*Surface-Enhanced Laser Desorption /Ionization*) [25-29].

W 2002 roku John Fenn i Koichi Tanaka otrzymali Nagrodę Nobla w dziedzinie chemii za rozwój łagodnych, desorpcyjnych metod jonizacji, mających zastosowanie w analizie biomolekuł. Wkład Fenna polegał na opracowaniu metody jonizacji poprzez elektrozpylanie [30, 31], zwanej w skrócie ESI (*electrospray ionisation*), w której praktycznie nie dochodzi do fragmentacji cząsteczek analitu. W ściśle określonych warunkach (wysokie napięcie pod ciśnieniem atmosferycznym) można „przenieść” badaną cząsteczkę z cieczy do spektrometru masowego bez zmiany jej struktury [32, 33]. Ma to szczególnie duże znaczenie w analizie biomolekuł, takich jak na przykład enzymy i białka, gdyż zrozumienie funkcji, jakie pełnią te związki chemiczne w organizmie, wymaga dokładnego poznania ich budowy [34].

Metoda jonizacji typu elektrosprej [4, 35-37] może być wykorzystywana w różnego rodzaju spektrometrach masowych. Jednak na szczególną uwagę zasługuje połączenie ESI ze spektrometrią mas cyklotronowego rezonansu jonowego z transformacją Fouriera FT-ICR (*Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance*) [38-43]. Ogromne zainteresowanie ESI FT-ICR wynika z korzyści,

jakie daje unikatowe połączenie metody tworzenia jonów za pomocą elektro-rozpylania z techniką detekcji jonów, stosowaną w spektrometrach FT-ICR [44]. W procesie jonizacji za pomocą ESI może dochodzić do przyłączenia bądź oderwania od badanej cząsteczki kilku-kilkunastu protonów, co w konsekwencji powoduje powstawanie jonów obdarzonych ładunkiem wielokrotnym. W wyniku tego procesu możliwa jest analiza substancji wysokocząsteczkowych o masie przekraczającej 100 000 Da [45] w zakresie wartości $500 < m/z < 3000$ obserwowanego widma. Spektrometry FT-ICR charakteryzują się bardzo dużą rozdzielczością analizatora oraz czułością, umożliwiając przeprowadzenie wielostopniowych eksperymentów tandemowej spektrometrii mas. Ponadto ESI-FTICR pozwala na przeprowadzenie analizy związków chemicznych o bardzo małym stężeniu, rzędu kilku femtomoli (10^{-15} mola) [46-49]. ESI FT-ICR [50-52] jest techniką szeroko stosowaną w analizie dużych cząsteczek, takich jak: biopolimery [53, 54], oligomery DNA [55] oraz białka [56, 57]. Zaletą tej metody w przypadku analizy białek jest możliwość uzyskania szczegółowych informacji na temat sekwencji aminokwasów tworzących badaną cząsteczkę [58-60].

Istnieje szereg metod fragmentacji wykorzystywanych w tandemowej spektrometrii mas. Wybór metody zależy od budowy i parametrów stosowanego spektrometru masowego, jak również od właściwości badanej substancji. Jedną z najstarszych i najczęściej wykorzystywanych metod fragmentacji jest dysocjacja spowodowana zderzeniem badanego jonu z cząsteczkami gazów obojętnych, takich jak argon lub azot. W wyniku zderzenia następuje wzrost energii wewnętrznej i fragmentacja jonu. Metoda ta jest w skrócie nazywana CID (*Collision Induced Dissociation*) lub CAD (*Collision Activated Dissociation*) [61-65]. CID cieszy się ogromną popularnością i ze względu na stosunkowo małe wymagania techniczne może być stosowana w większości spektrometrów masowych. Jednak w przypadku analizy bardziej złożonych cząsteczek, takich jak peptydy czy białka zastosowanie metody CID skutkuje uzyskaniem bardzo ubogich danych na temat struktury związku. Metoda ta nie dostarcza na przykład informacji na temat modyfikacji potranslacyjnych białek [66].

W ostatnich latach szczególnie dużym zainteresowaniem cieszą się metody fragmentacji oparte na oddziaływaniu jonów z elektronami, stosowane przede wszystkim w analizie różnego rodzaju biomolekuł [67]. Metoda wychwytu elektronów, zwana w skrócie ECD (*Electron Capture Dissociation*) [68], która polega na tym, że jony obdarzone ładunkiem wielokrotnym (*multiply-charged ions*) oddziałują z elektronami o niewielkiej energii ($< 0,2$ eV), jest ważnym narzędziem w analizie struktury białek, dostarcza między innymi informacji o potranslacyjnych modyfikacjach tych związków [69-74]. Może być również z powodzeniem wykorzystywana do badania budowy polimerów i dendrymerów [75-77]. Zasadniczym ograniczeniem metody ECD jest to, że nie można jej stosować do badania związków chemicznych tworzących jony ujemne lub jednododatnie. W wyniku wychwycenia elektronu przez jon obdarzony ładunkiem wielokrotnym dodatnim (np. M^{3+} , M^{14+}) następuje dekompozycja jonu i po-

wstanie jonów potomnych o zredukowanym ładunku. Wychwyt elektronu przez jon obdarzony pojedynczym ładunkiem dodatnim prowadzi do powstania cząstek obojętnych, „niewidocznych” dla detektora spektrometru masowego. W technice zwanej HECD (*Hot Electron Capture Dissociation*) stosuje się elektrony o wyższej energii (rzędu 3-13 eV), a proces wychwycenia elektronu związany jest ze zjawiskiem wzbudzenia elektronowego w badanym jonie [78]. W przypadku gdy analizowany związek chemiczny tworzy aniony stosuje się metodę EDD (*Electron Detachment Dissociation*), która polega na tym, że fragmentacja jonu jest związana z procesem oderwania od niego elektronu [79]. Opracowano również szereg metod opartych na oddziaływaniu elektronów z jonami jednododatnimi, takich jak: EIEIO [80] (*Elektron Induced Excitation of Ions from Organics*), EED [81] (*Electronic Excitation Dissociation*) oraz EID (*Electron Ionization Dissociation*) [82]. We wszystkich trzech metodach EIEIO, EED, EID dysocjacja jonu jednododatniego badanego związku jest indukowana za pomocą elektronów o wysokiej energii (> 10 eV), dlatego zaproponowano dla nich jedną wspólną nazwę EID (*Electron Induced Dissociation*) [83].

Poważnymi ograniczeniami stosowania wymienionych metod fragmentacji do badania struktury związków chemicznych są wymagania techniczne, jakie musi spełniać spektrometr masowy. Jedynie w przypadku spektrometrów wyposażonych w liniową pułapkę jonową (*Linear Ion Trap*) oraz analizator cyklotronowego rezonansu jonów z fourierowską transformacją wyników możliwe jest wykorzystanie wszystkich wymienionych metod fragmentacji jonów. Ze względu na problemy związane z „wyprodukowaniem” elektronów o ściśle określonej energii metodę ECD można stosować efektywnie tylko i wyłącznie w spektrometrach FT-ICR. W spektrometrze tego typu jony macierzyste zostają wyselekcjonowane w liniowej pułapce jonowej, gdzie następuje ich fragmentacja. Jony potomne można rejestrować w analizatorze FT-ICR lub w pułapce jonowej [84, 85]. Możliwe jest wymuszenie dysocjacji jonów w komórce ICR przez zastosowanie innych metod, takich jak: fragmentacja wielofotonowa promieniowaniem podczerwonym nazywana IRMPD (*Infrared Multiphoton Dissociation*) [86-88], fragmentacja promieniowaniem podczerwonym z ciała czarnego BIRD (*Blackbody Infrared Radiative Dissociation*) [89, 90], dysocjacja indukowana na powierzchni, tzw. SID (*Surface Induced Dissociation*) [91, 92], oraz na skutek długotrwałego oddziaływania z cząsteczkami gazów obojętnych SORI-CID (*Sustained off-Resonance Irradiation Collision Induced Dissociation*) [93, 94].

Dzięki możliwości zastosowania wielu różnych metod fragmentacji spektrometry FT-ICR wyposażone w elektrorozpylacz są najnowocześniejszymi systemami służącymi do identyfikacji peptydów i białek [95, 96]. Połączenie ESI-FTICR z chromatografami umożliwia analizę wielu białek w badanej próbce i jest obecnie podstawowym narzędziem stosowanym w proteomice [97-103]. Metody tandemowej spektrometrii mas, w których wykorzystuje się kombinację ESI-FTICR, coraz częściej stosuje się do badania struktury i identyfikacji innych związków chemicznych, takich jak: oleje, fulereny, polimery [104-108]. Mimo potencjalnych możliwości analitycznych różnorodnych metod

tandemowej spektrometrii mas w przypadku wielu badanych związków chemicznych metod MS/MS nie wykorzystano w pełni. Zastosowanie niewłaściwej metody fragmentacji skutkuje uzyskaniem bardzo ubogich informacji na temat struktury analizowanej substancji. Często jedynie użycie dwóch lub kilku metod fragmentacji pozwala na uzyskanie pełnych danych o budowie związku.

2. UZASADNIENIE PODJĘCIA BADAŃ

W ostatnich latach obserwuje się ciągły wzrost zainteresowania naukowców technikami tandemowej spektrometrii mas jako stosunkowo nieskomplikowanymi metodami służącymi do identyfikacji oraz ustalania struktury prostych związków chemicznych. Pojawienie się nowych technik jonizacji (np. ESI) oraz fragmentacji, opartych na oddziaływaniu jon-elektron, takich jak ECD, EID, EDD, umożliwia zastosowanie metod MS/MS do badania bardziej złożonych związków chemicznych, np. polimerów czy kompleksów supramolekularnych. Mimo potencjalnych możliwości analitycznych metody tandemowej spektrometrii mas nie były do tej pory stosowane w przypadku wielu związków chemicznych, których budowa wymaga lepszego poznania bądź też dokładnego sprawdzenia przed zastosowaniem tego związku, np. w medycynie (dendrymerów, polifosfoestrów). W wielu przypadkach użycie tradycyjnej metody fragmentacji CID do badania struktury związków skutkowało uzyskaniem bardzo ubogich informacji. Często jedynie zastosowanie kombinacji kilku metod fragmentacji, opartych zarówno na oddziaływaniu jon-elektron, jak i jon-cząsteczka gazu obojętnego (azotu, argonu, ksenonu) pozwala na uzyskanie szczegółowych informacji na temat struktury badanych związków chemicznych. W opracowaniu zawarto przykłady zastosowania różnych metod MS/MS lub ich kombinacji do badania budowy związków chemicznych różniących się zarówno stopniem złożoności, jak i rodzajem grup funkcyjnych: dendrymerów PAMAM (ECD, EDD, CID), kompleksów, jakie tworzy dendrymer PAMAM drugiej generacji o amidoetanolowych grupach powierzchniowych z jonami metali Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} (ECD, CID), polifosfoestrów (CID, ECD), trójjądrowych kompleksów żelaza(III), zawierających mostki karboksylowe oraz centralny atom tlenu (EID, CID), oktaetyloporfiryry i kompleksów, jakie tworzy ona z żelazem (EID) supramolekularnych kompleksów metali (CID, ECD, IRMPD) a także kompleksów wanadu(V): alkoksylowych oraz zawierających cząsteczkę kwasu dikarboksylowego (CID). Wymienione związki chemiczne pełnią ważne funkcje w różnych dziedzinach nauki. Dendrymery oraz ich kompleksy z metalami ostatnio szeroko stosuje się w medycynie jako nośniki leków czy też w procesie transfekcji genów. Polifosfoestry znajdują zastosowanie między innymi w przemyśle farmaceutycznym (nośniki leków, inżynieria tkankowa). Porfiryry pełnią ważne role biologiczne zarówno w organizmach roślinnych, jak i zwierzęcych. Trójjądrowe kompleksy żelaza, zawierające mostki karboksylowe oraz centralny atom tlenu, pełnią istotną rolę w badaniu oddziaływań elektronowych oraz magnetycznych w cząsteczce. Zarówno kompleksy wanadu, jak i kompleksy supramolekularne i kompleksy utworzone przez dendrymery PAMAM z jonami metali pełnią ważne funkcje w różnego rodzaju procesach katalizy. Przedstawione rezultaty badania budowy oktaetyloporfiryry i jej kompleksów z metalami oraz kompleksów $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6]^+$ i $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6+\text{H}_2\text{O}]^+$ za pomocą metody EID oraz polifosfoestrów przy użyciu techniki ECD są przykładami zastosowania metod fragmentacji opartych na oddziaływaniu jon-

elektron do badania budowy tego typu związków po raz pierwszy. Przykłady zawarte w opracowaniu mają na celu wykazanie, że właściwy dobór metody fragmentacji zastosowanej do badania budowy cząsteczek/kompleksów ma kluczowe znaczenie, a metody tandemowej spektrometrii mas można z powodzeniem wykorzystywać w analizie strukturalnej różnych związków chemicznych.

3. ZAKRES PRACY I METODYKA BADAŃ

W opracowaniu przedstawiono przykłady zastosowania wybranych metod tandemowej spektrometrii mas (CID, ECD, EDD, EID, IRMPD) z wykorzystaniem techniki jonizacji ESI do badania struktury odpowiednio: dendrymerów PAMAM, różniących się zarówno liczbą generacji, jak i rodzajem grup powierzchniowych (ECD, EDD, CID) [109], kompleksów jonów metali Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} z dendrymerem PAMAM drugiej generacji, mającym amidoetanolowe grupy powierzchniowe (ECD, CID) [110], polifosfoestrów (ECD, CID) [111], trójjądrowych kompleksów żelaza, zawierających mostki karboksylowe oraz centralny atom tlenu o wzorze $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{O}_2\text{CR})_6\text{L}_3]^+$ (EID, CID) [112], oktaetyloporfiryny i kompleksów, jakie tworzy ona z jonem żelaza (EID, CID) [113], supramolekularnych kompleksów metali (ECD, CID, IRMPD) [114] oraz kompleksów wanadu(V): alkoksylowych o wzorze $[(\text{L})\text{V}(\text{OR}^1)(\text{OR}^2)]^+$ (CID) [115], gdzie L oznacza ligand katecholowy oraz zawierających cząsteczkę kwasu dikarboksylowego typu $[(\text{XCOO})_2\text{VO}(\text{C}, \text{H}_4, \text{O})]^+$ (CID) [116].

3.1. ODCZYNNIKI I SPOSÓB PRZYGOTOWANIA PRÓBEK

Wszystkie odczynniki chemiczne niezbędne do przeprowadzenia eksperymentów spektrometrii mas oraz tandemowej spektrometrii mas zakupiono od producentów (Sigma-Aldrich, SigmaChemical Co, FisherScientific, J.T. Baker, BDH Ltd., Fluka Chemie AG) i wykorzystano w oryginalnej postaci, bez dalszego oczyszczania. Wyjątek stanowią supramolekularne kompleksy żelaza(II), srebra(I) i miedzi(I), które przygotowali prof. Hannon i współpracownicy w sposób wcześniej opisany [117].

Dendrymery PAMAM zawierające grupy powierzchniowe aminowe i amidoetanolowe zostały rozcieńczone do stężenia $10 \text{ pmol} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ w roztworze metanolu, wody destylowanej oraz kwasu octowego (49:49:2, obj.). Dendrymer generacji połówkowej z grupami powierzchniowymi $-\text{COONa}$ rozcieńczono do stężenia $10 \text{ pmol} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ w roztworze CH_3OH i NH_4OH (98:2, obj.).

Kompleksy dendrymeru PAMAM drugiej generacji, zawierającego amidoetanolowe grupy powierzchniowe z jonami metali Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} przygotowano poprzez zmieszanie 1 mM wodnych roztworów odpowiednich soli metali: AgNO_3 , $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, ZnCl_2 , FeSO_4 i FeCl_3 z 1 mM metanolowym roztworem dendrymeru PAMAM, w stosunku objętościowym 1:1. Następnie roztwór rozcieńczono do stężenia 10 μM dendrymeru PAMAM i odpowiedniej soli metalu w mieszaninie metanolu, wody destylowanej i kwasu octowego (49:49:2, obj.).

W celu wykonania eksperymentów MS oraz CID MS/MS polifosfoester poli(1,4bis(hydroksyetylo)tereftalato)-*alt*-etyloksyfosforan rozpuszczono w chloroformie i rozcieńczono do stężenia $10 \text{ pmol} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, w roztworze metanolu i kwasu octowego (30:70:2, obj.). W części doświadczalnej, podczas której przeprowa-

dzono eksperymenty ECD, w celu uzyskania kationów dwudodatnich jonów polifosfoestru do roztworu przygotowanego w wyżej opisany sposób dodano wodnego roztworu jodku sodowego. Roztwór wprowadzony do spektrometru za pomocą elektrorozpylania składał się z polifosfoestru rozpuszczonego w chloroformie, NaI rozpuszczonego w wodzie, metanolu i kwasu octowego (30:10:70:2, obj.). Stężenie polifosfoestru wynosiło $10 \text{ pmol} \cdot \mu\text{L}^{-1}$. Stosunek molowy polifosfoestru do jodku sodowego wynosił 1:1.

Jony jednododatnie trójjądrowych kompleksów żelaza, zawierających mostki karboksylowe oraz centralny atom tlenu o wzorach $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{O}_2\text{CCH}_3)_6]^+$ i $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{O}_2\text{CH})_6 + \text{H}_2\text{O}]^+$ powstały w wyniku elektrorozpylania wodnego roztworu FeCl_3 rozcieńczonego w metanolu i kwasie octowym lub mrówkowym do stężenia $10 \text{ pmol} \cdot \mu\text{L}^{-1}$. Roztwór składał się z: FeCl_3 rozpuszczonego w wodzie, metanolu, kwasu octowego lub mrówkowego (30:70:4, obj.).

Jednowartościowe kationy oktaetyloporfiryny OEP oraz kompleksu oktaetyloporfiryny z żelazem $\text{Fe}(\text{OEP})\text{Cl}$ utworzono przez elektrorozpylanie roztworu uzyskanego wskutek rozpuszczenia odpowiedniego związku w chloroformie, a następnie rozcieńczenia w mieszaninie metanolu z kwasem mrówkowym (30:70:2, obj.) do stężenia $10 \mu\text{M}$.

Kompleksy supramolekularne żelaza(II), miedzi(I) oraz srebra(I) rozpuszczono w mieszaninie wody, metanolu oraz kwasu mrówkowego (49:49:2, obj.) tak, aby uzyskać roztwór o stężeniu $10 \mu\text{M}$.

Alkoksylowe kompleksy wanadu utworzono w wyniku rozpuszczenia VOCl_3 w odpowiednim alkoholu lub mieszaninie alkoholi z niewielkim dodatkiem katecholu (5:85:10, obj.). W przypadku zastosowania dwóch różnych alkoholi mieszano je w stosunku objętościowym 1:1.

Kompleksy wanadu(V) zawierające cząsteczkę kwasu dikarboksylowego zostały utworzone w wyniku rozpuszczenia $\text{OV}(\text{OC}_2\text{H}_5)$ w metanolu (lub CD_3OD) z dodatkiem odpowiedniego kwasu: maleinowego, bursztynowego lub octowego (5:90:5, obj.).

3.2. SPEKTROMETRIA MAS I TANDEMOWA SPEKTROMETRIA MAS

Wszystkie doświadczenia spektrometrii mas oraz tandemowej spektrometrii mas, dotyczące dendrymerów PAMAM, ich kompleksów z jonami metali, polifosfoestrów, trójjądrowych kompleksów żelaza o wzorze $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{O}_2\text{CR})_6\text{L}_3]^+$, oktaetyloporfiryny i kompleksów, jakie tworzy ona z jonem żelaza, wykonano z wykorzystaniem spektrometru masowego Thermo Finnigan LTQ FT (Thermo Fisher Scientific, Germany) na Uniwersytecie w Birmingham w Wielkiej Brytanii [109-114]. Badane próbki były wprowadzane do instrumentu poprzez elektrorozpylanie za pomocą urządzenia Advion Biosciences Triversa Nanomate. Analizę danych wykonano przy użyciu programu Xcalibur 2.0 (Thermo Fisher Scientific). Widma masowe uzyskano przy rozdzielczości 100,000 dla m/z 400.

Wszystkie widma MS i MS/MS zawierały ponad 30 skanów, każdy skan zawierał pięć mikroskanów. Analizę wszystkich widm przeprowadzono manualnie.

W przypadku supramolekularnych kompleksów metali doświadczenia MS i MS/MS przeprowadzono również na ww. spektrometrze masowym, natomiast eksperymenty MS³ na spektrometrze 9.4 T ESI-Q-FTICR [44] w National High Magnetic Field Laboratory w Tallahassee, FL.

Eksperymenty CID

Wszystkie eksperymenty CID przeprowadzono w liniowej pułapce jonowej instrumentu; powstające jony potomne przeniesiono do komórki ICR w celu detekcji. Szerokość izolacji dla badanych jonów wynosiła 10 m/z. Funkcję AGC (*automatic gain control*) wykorzystano do akumulacji wystarczającej ilości jonów prekursora (docelowo 1×10^6). W doświadczeniach zastosowano hel, znormalizowana energia kolizji wynosiła 35%.

Eksperymenty ECD

Jony macierzyste o określonej wartości m/z zostały wyselekcjonowane i wyizolowane w liniowej pułapce jonowej instrumentu i przeniesione do komórki ICR w celu przeprowadzenia doświadczeń ECD. Szerokość izolacji dla badanych jonów wynosiła 10 m/z. Funkcję AGC wykorzystano do akumulacji wystarczającej liczby jonów prekursora (docelowo 1×10^6). Elektrony zostały wyprodukowane na powierzchni niebezpośrednio ogrzewanej, barowo-wolframowej katody cylindrycznej (Heat Wave Labs, Inc. Watsonville, CA). Przez elektrodę przepływał prąd o natężeniu około 1,1 A. Jony prekursora oddziaływały z elektronami o niewielkiej energii ($< 0,2$ eV) przez 70 ms.

Eksperymenty EID

We wszystkich doświadczeniach EID badane jony zostały wyselekcjonowane i wyizolowane w liniowej pułapce jonowej instrumentu, a następnie przeniesione do komórki ICR w celu przeprowadzenia eksperymentów EID. Szerokość izolacji dla badanych jonów wynosiła 10 m/z. Funkcję AGC wykorzystano w celu akumulacji wystarczającej ilości jonów prekursora (docelowo 1×10^6). Elektrony wyprodukowano na powierzchni niebezpośrednio ogrzewanej barowo-wolframowej katody cylindrycznej (Heat Wave Labs, Inc. Watsonville, CA). Jony prekursora oddziaływały z elektronami o wysokiej energii (> 10 eV) przez 70 ms (25% energii, co odpowiada potencjałowi katody -23,79 V).

Eksperymenty IRMPD

Jony prekursora zostały wyizolowane w liniowej pułapce jonowej instrumentu. Szerokość izolacji dla badanych jonów wynosiła 10 m/z. Funkcję AGC

wykorzystano do akumulacji wystarczającej liczby jonów prekursora (docelowo 5×10^5). Fotonów do eksperymentów IRMPD dostarczył laser CO₂ (fala ciągła 40W, długość fali 10,6 μm). Wyizolowane jony prekursora oddziaływały z fotonami przez 500 ms (80% mocy).

Eksperymenty MS³

Jony prekursora $[\text{Fe}_2\text{L}_3]^{4+}$ wyizolowano w kwadrupolu spektrometru masowego 9,4 T ESI-Q-FTICR [44], akumulowano przez 4 s i przeniesiono do komórki ICR instrumentu. Następnie w celu przeprowadzenia doświadczenia ECD jony te poddano oddziaływaniu przez 150-300 ms z elektronami (potencjał katody -2.8 V). Produkty procesu ECD (jony $[\text{Fe}_2\text{L}_2]^{2+}$) wyizolowano w komórce ICR dzięki zastosowaniu funkcji SWIFT [44], a potem poddano trzem różnym typom fragmentacji. ECD: po izolacji jony $[\text{Fe}_2\text{L}_2]^{2+}$ oddziaływały z elektronami przez 250 ms. Każde spektrum masowe ECD zawierało 125 skanów. IRMPD: wyizolowane przy użyciu funkcji SWIFT produkty ECD poddano oddziaływaniu z fotonami przez 1,5 s (95% mocy laseru). Każde spectrum masowe zawierało 85 skanów. SORI-CID: hel wprowadzono do komórki ICR (puls 3,6 ms), w której znajdowały się produkty procesu ECD, każde spectrum masowe SORI-CID zawierało 65 skanów.

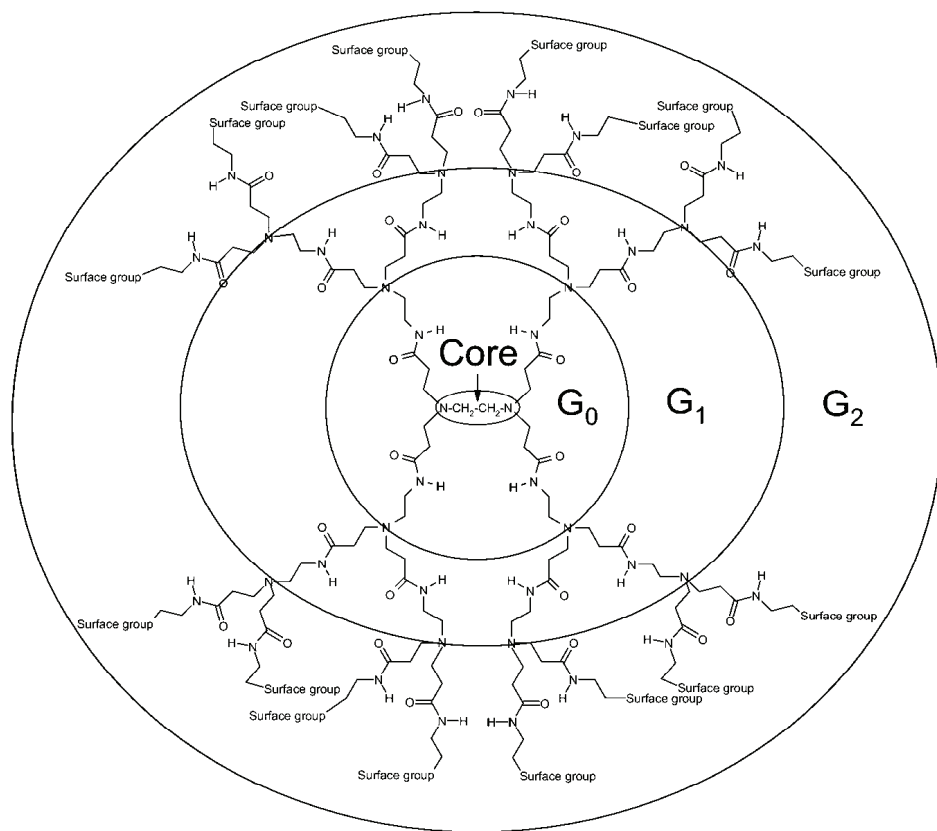
Eksperymenty dotyczące kompleksów wanadu przeprowadzono na spektrometrze masowym VG BIO-Q o konfiguracji QHQ (Q-kwadrupol, H-heksapol) na Politechnice Berlińskiej [115, 116]. Roztwory wprowadzono do źródła jonów ESI poprzez kapilarę silikonową za pomocą małej pompy strzykawkowej (przepływ 3-5 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$). Azot wykorzystano jako gaz atomizujący i suszący, temperatura źródła jonów wynosiła 80°C. Doświadczenia CID przeprowadzono z wykorzystaniem ksenonu o ciśnieniu 3×10^{-4} milibara oraz dla kilku różnych wartości energii kolizji (E_{lab} wynosiła od 0 do 30 eV). Jony prekursora wyselekcjonowano w części Q1 instrumentu, następnie przeniesiono do heksapola, gdzie poddano je oddziaływaniu z ksenonem. Produkty tego procesu przeniesiono do Q2 w celu detekcji. Po to, aby utrzymać łagodne warunki jonizacji we wszystkich doświadczeniach, napięcie dla stożka Taylora (ESI) wynosiło od 20 do 40 eV. Wszystkie widma MS i CID MS składały się z co najmniej 20 skanów.

4. ZASTOSOWANIE METOD ECD, EDD I CID TANDEMOWEJ SPEKTROMETRII MAS DO BADANIA STRUKTURY JONÓW POLIAMIDOAMINOWYCH DENDRYMERÓW PAMAM

Dendrymery poliamidoaminowe PAMAM, zsyntezowane po raz pierwszy w 1994 roku przez Tomalię [118], należą do grupy polimerów o regularnej, rozgałęzionej strukturze. Zbudowane są z rdzenia centralnego, identycznych, powtarzających się rozgałęzień przyłączanych sekwencyjnie merów poliamidoaminowych oraz grup powierzchniowych (rys. 1). Każdy kolejny etap powiększenia cząsteczki dendrymeru o przyłączane grupy poliamidoaminowe reprezentuje nową generację polimeru, oznaczaną literą G. Powiększenie dendrymeru o kolejną generację skutkuje wzrostem rozmiarów cząsteczki, jej masy oraz liczby grup powierzchniowych. Specyficzna budowa cząsteczek dendrymerów pozwala na precyzyjną kontrolę ich wielkości, kształtu oraz rodzaju i lokalizacji powierzchniowych grup funkcyjnych [119, 120]. Ze względu na podobieństwo kształtu i wielkości cząsteczek dendrymerów PAMAM do białek często nazywa się je „sztucznymi białkami” [121].

Dendrymery wzbudzają coraz większe zainteresowanie naukowców, przede wszystkim ze względu na możliwości ich zastosowania w medycynie, na przykład w procesie transfekcji genów oraz jako „nośniki” leków wprowadzanych do organizmu [122-125]. Stosuje się je również w procesach katalizy oraz w procesie produkcji nanopartykuł, mających zastosowanie w różnych dziedzinach nauki [126-132]. Wykorzystanie tych związków na szerszą skalę wymaga jednak opracowania techniki analitycznej pozwalającej zbadać „szybko i łatwo” budowę zsyntezowanych dendrymerów. Dendrymery mające „defekty”, np. jedno ramię krótsze czy niejednakowe grupy powierzchniowe, charakteryzują się innymi właściwościami. Wynika stąd konieczność dokładnego poznania budowy wyprodukowanego związku przed jego zastosowaniem, np. w medycynie [133].

Spektrometria mas jest potencjalnie bardzo dobrym narzędziem do badania budowy dendrymerów PAMAM. Metody ESI-FTICR oraz MALDI-TOF z powodzeniem wykorzystywano do określenia masy cząsteczkowej tych związków [134-137]. Po to, aby zbadać defekty w strukturze zsyntezowanych dendrymerów, posłużono się spektrometrią mas MALDI-TOF [138, 139]. Technika ta może być również, chociaż w ograniczonym stopniu wykorzystywana do badania procesów fragmentacji jonów dendrymerów [140]. Metodę fragmentacji CID zastosowano zarówno do badania struktury jonów dodatnich utworzonych przez dendrymery PAMAM oraz ich kompleksów z jonami Ag^+ [141], jak i do analizowania budowy dendrymerów tworzących w roztworze aniony [142]. Oh wraz ze współpracownikami wykorzystali metodę fragmentacji ECD do zbadania struktury dendrymeru PAMAM trzeciej generacji, zawierającego amidoetanolo-we grupy powierzchniowe [143]. Zaobserwowali, iż mimo dużego podobieństwa w budowie, dendrymery i białka ulegają innym procesom fragmentacji ECD.



Źródło: [Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2008, 19, 1312-1319 DOI: 10.1016/j.jasms.2008.06.016, Kaczorowska, M., Cooper, H.J., "Electron Capture Dissociation, Electron Detachment Dissociation, and Collision-Induced Dissociation of Polyamidoamine (PAMAM) Dendrimer Ions with Amino, Amidoethanol, and Sodium Carboxylate Surface Groups.", Scheme 1].

Rys. 1. Struktura dendrymeru PAMAM, *surface group* – grupa powierzchniowa, *core* – rdzeń [109]

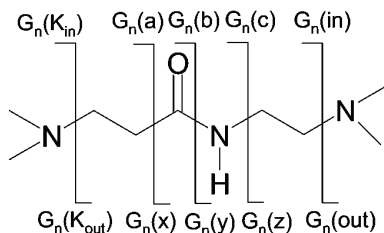
W opracowaniu przedstawiono wyniki badania za pomocą metod tandemowej spektrometrii mas ESI FT-ICR struktury dendrymerów poliamidoaminowych PAMAM. Wyniki te opublikowano [109]. Celem projektu było zbadanie, czy wybrane metody fragmentacji MS/MS dostarczą wyczerpujących informacji na temat struktury związków różniących się zarówno wielkością cząsteczki (generacją), jak i rodzajem grup powierzchniowych. Badania przeprowadzono dla: dendrymeru generacji pierwszej PAMAMG1NH₂, mającego osiem grup powierzchniowych, którymi są pierwszorzędowe grupy aminowe -NH₂; dendrymeru drugiej generacji PAMAMG2OH, zawierającego szesnaście grup powierzchniowych -OH; dendrymeru generacji połówkowej PAMAMG0.5COONa, zawierającego osiem grup powierzchniowych -COONa.

Wszystkie badane związki mają ten sam etylenodiaminowy rdzeń (-N-CH₂-CH₂-N-). Dendrymer PAMAMG0.5COONa jest związkiem o generacji połówkowej, o wzorze [-CH₂N(CH₂CH₂COONa)₂]₂.

Proces jonizacji próbek dendrymerów za pomocą elektrorozpylania prowadzi do powstania szeregu jonów molekularnych: [M+4H]⁴⁺, [M+5H]⁵⁺, [M+6H]⁶⁺ i [M+7H]⁷⁺ w przypadku PAMAMG2OH oraz [M+2H]²⁺, [M+3H]³⁺ i [M+4H]⁴⁺ w przypadku dendrymeru PAMAMG1NH₂. Ze względu na charakter grup powierzchniowych dendrymer PAMAMG0.5COONa nie tworzy kationów. Elektrorozpylanie tego związku w odpowiednich warunkach skutkuje utworzeniem anionów, które mają mieszane grupy powierzchniowe -COONa oraz -COOH. Wynika to z obecności w zastosowanym rozpuszczalniku CH₃OH/NH₄OH protonów, które zajmują miejsca jonów sodowych obecnych w grupach powierzchniowych związku.

Wybór metody fragmentacji zastosowanej do badania struktury utworzonych jonów molekularnych zależy od rodzaju i charakteru tych jonów. W przypadku dendrymerów PAMAMG2OH i PAMAMG1NH₂ badania dysocjacji powstałych jonów przeprowadzono, wykorzystując tradycyjną metodę opartą na kolizji z cząsteczkami gazów obojętnych (argon) CID oraz stosunkowo nową, bazującą na oddziaływaniu jon-elektron, metodę wychwytu elektronów ECD. Jony molekularne dendrymeru PAMAMG0.5COONa poddano fragmentacji, stosując metodę CID i metodę EDD, w której dysocjacja jonu zachodzi na skutek oderwania od niego elektronu. Dla wszystkich wytworzonych i badanych jonów molekularnych tego samego dendrymeru w tych samych eksperymentach (CID lub ECD, lub EDD) obserwowano bardzo zbliżone, niemal identyczne procesy fragmentacji [109]. W opracowaniu przedstawiono wyniki doświadczeń przeprowadzonych dla tych jonów, których sygnał na widmie masowym był najbardziej intensywny, czyli [M+6H]⁶⁺ dla PAMAMG2OH, [M+4H]⁴⁺ PAMAMG1NH₂ oraz [M-5Na+2H]⁻³ PAMAMG0.5COONa.

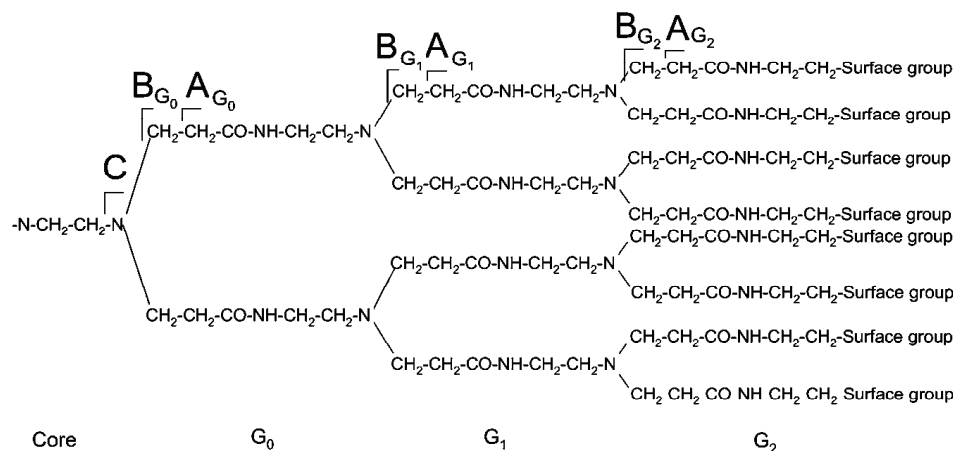
Ze względu na złożoną budowę badanych związków oraz dużą ilość fragmentów obserwowanych w przeprowadzonych doświadczeniach, do opisu zachodzących procesów dysocjacji ECD wykorzystano nomenklaturę opracowaną przez Oh'a [143] i przedstawioną na schemacie 2. Symbole G_n(in) oraz G_n(out) odnoszą się do procesów fragmentacji, w których rozerwaniu ulega jedno wiązanie trzeciorzędowej grupy aminowej, zlokalizowane po stronie rdzenia. Symbol K dotyczy procesów dysocjacji, w których rozerwane zostaje jedno wiązanie grupy aminowej trzeciorzędowej, zlokalizowane po stronie grup powierzchniowych.



Źródło [Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2008, 19, 1312-1319 DOI: 10.1016/j.jasms.2008.06.016, Kaczorowska, M., Cooper, H.J., "Electron Capture Dissociation, Electron Detachment Dissociation, and Collision-Induced Dissociation of Poly-amidoamine (PAMAM) Dendrimer Ions with Amino, Amidoethanol, and Sodium Carboxylate Surface Groups.", Scheme 2].

Rys. 2. Sposób oznaczenia miejsc w cząsteczce dendrymeru PAMAM, w których w procesie fragmentacji ECD dochodzi do rozerwania wiązań [109]

Ze względu na zasadnicze różnice w obserwowanych procesach fragmentacji CID i ECD badanych dendrymerów jony potomne powstające w wyniku przeprowadzonych doświadczeń CID oznaczono w sposób opisany na rysunku 3.

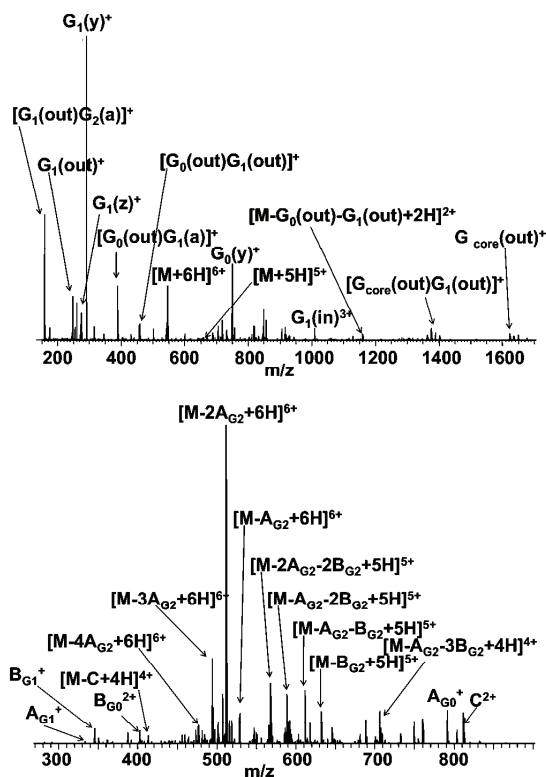


Źródło: [Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2008, 19, 1312-1319 DOI: 10.1016/j.jasms.2008.06.016, Kaczorowska, M., Cooper, H.J., "Electron Capture Dissociation, Electron Detachment Dissociation, and Collision-Induced Dissociation of Poly-amidoamine (PAMAM) Dendrimer Ions with Amino, Amidoethanol, and Sodium Carboxylate Surface Groups.", Scheme 3].

Rys. 3. Sposób oznaczenia miejsc w cząsteczce dendrymeru PAMAM, w których w procesie fragmentacji CID dochodzi do rozerwania wiązań. Na schemacie przedstawiono połowę cząsteczki dendrymeru drugiej generacji, surface group – grupa powierzchniowa [109]

Widma ECD i CID MS/MS wyizolowanych jonów $[M+6H]^{6+}$ dendrymeru PAMAMG2OH przedstawiono na rysunku 4. Tabela 1 zawiera dane o wszyst-

kich jonach potomnych utworzonych w wyniku procesu ECD. Najbardziej intensywne piki na widmie fragmentacyjnym ECD badanego dendrymeru drugiej generacji odpowiadają jonom potomnym y, pochodzącym z generacji pierwszej i zerowej ($G_1(y)^+$, $G_0(y)^+$) oraz jonom $G_1(in)^{3+}$, $G_0(in)^{3+}$, $G_{core}(in)^+$, $G_1(in)^{4+}$, będącym rezultatem rozerwania wiązań trzeciorzędowych grup aminowych. Jony potomne $G_1(out)^+$, $G_{core}(out)^+$ powstają również na skutek rozerwania wiązań trzeciorzędowych grup aminowych, jednak w tym przypadku wiązanie zostaje rozerwane w taki sposób, że ładunek pozostaje na powierzchni dendrymeru. Jony te są nietrwałe i ulegają dalszym procesom dysocjacji, w wyniku których powstają kationy: $[G_1(out)G_2(a)]^+$, $[G_0(out)G_1(a)]^+$ i $[G_0(out)G_1(out)]^+$. Wszystkie obserwowane piki odpowiadają jonom potomnym powstałym na skutek rozerwania wiązań zlokalizowanych w wewnętrznych generacjach cząsteczki: G_{core} , G_1 i G_2 . Grupy powierzchniowe nie wpływają na przebieg procesu ECD.



Źródło: [Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2008, 19, 1312-1319 DOI: 10.1016/j.jasms.2008.06.016, Kaczorowska, M., Cooper, H.J., "Electron Capture Dissociation, Electron Detachment Dissociation, and Collision-Induced Dissociation of Poly-amidoamine (PAMAM) Dendrimer Ions with Amino, Amidoethanol, and Sodium Carboxylate Surface Groups.", Figure 1].

Rys. 4. Widmo masowe (a) ECD FT-ICR i (b) CID FT-ICR jonów $[M+6H]^{6+}$ dendrymeru PAMAMG2OH [109]

Tabela 1. Jony potomne powstające w wyniku procesu ECD jonów $[M+6H]^{6+}$ dendrymeru PAMAMG2OH [109]

m/z	Masa zmierzona	Masa teoretyczna	Jon
160,1205	159,1132	159,1133	$[G_1(\text{out})G_2(\text{a})]^+$
247,1523	246,1450	246,1454	$G_1(\text{out})^+$
260,1601	259,1528	259,1532	$[G_1(\text{x})G_2(\text{y})]^+$
273,1916	272,1844	272,1848	$[G_1(\text{y})\text{-H}_2\text{O}]^+$
274,1757	273,1684	273,1689	$G_1(\text{z})^+$
291,2022	290,1949	290,1954	$G_1(\text{y})^+$
346,2442	345,2369	345,2138	$G_1(\text{K}_{\text{out}})^+$
389,2624	388,2551	388,2560	$[G_0(\text{out})G_1(\text{a})]^+$
459,2915	458,2842	458,2853	$[G_0(\text{out})G_1(\text{out})]^+$
546,0114	3270,0246	3270,0337	$[M+6H]^{6+}$
655,0132	3270,0295	3270,0337	$[M+5H]^{5+}$
706,4438	705,4365	705,4385	$G_0(\text{out})^+$
718,4434	717,4361	717,4385	$[G_0(\text{x})G_2(\text{y})]^+$
732,4592	731,4519	731,4541	$G_0(\text{z})^+$
749,4855	748,4782	748,4807	$G_0(\text{y})^+$
756,7244	3022,8684	3022,8804	$G_1(\text{in})^{4+}$
812,0088	1621,9993	1622,0090	$G_{\text{core}}(\text{out})^{2+}$
818,0090	1634,0034	1634,0095	$[1/2 M+2H]^{2+}$
848,5533	847,5460	847,5491	$[G_{\text{core}}(\text{out})G_0(\text{a})]^+$
855,8690	2564,5853	2564,5952	$G_0(\text{in})^{3+}$
917,5741	916,5669	916,5706	$[G_{\text{core}}(\text{out})G_0(\text{out})]^+$
926,2467	2775,7182	2775,7273	$[M-2G_1(\text{out})+3H]^{3+}$
1008,3916	3022,8894	3022,8804	$G_1(\text{in})^{3+}$
1159,7222	2317,4444	2317,4419	$[M-G_0(\text{out})-G_1(\text{out})+2H]^{2+}$
1283,2978	2564,5956	2564,5952	$G_0(\text{in})^{2+}$
1375,8549	1374,8477	1374,8557	$[G_{\text{core}}(\text{out})G_1(\text{out})]^+$
1388,8613	2775,7089	2775,7276	$[M-2G_1(\text{out})+2H]^{2+}$
1623,0055	1621,9982	1622,0090	$G_{\text{core}}(\text{out})^+$
1635,0068	1633,9995	1634,0090	$[1/2 M+H]^+$
1649,0203	1648,0131	1648,0247	$G_{\text{core}}(\text{in})^+$
1860,1514	1859,1441	1859,1567	$[M-2G_0(\text{out})]^+$

[Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2008, 19, 1312-1319 DOI: 10.1016/j.jasms.2008.06.016, Kaczorowska, M., Cooper, H.J., "Electron Capture Dissociation, Electron Detachment Dissociation, and Collision-Induced Dissociation of Polyamidoamine (PAMAM) Dendrimer Ions with Amino, Amidoethanol, and Sodium Carboxylate Surface Groups.", supplementary section.].

Dominującymi procesami dysocjacji CID jonów $[M+6H]^{6+}$ dendrymeru PAPAMG2OH są: utrata obojętnych fragmentów A_{G2} i B_{G2} oraz równoczesna utrata obu typów fragmentów w różnym stosunku stechiometrycznym. Dokładna struktura fragmentu A_{G2} nie jest znana. Ze względu na to, że proton może być przyłączony zarówno do trzeciorzędowej grupy aminowej, jak i do atomu tlenu grupy karbonylowej, istnieją dwa możliwe izomery fragmentu A_{G2} : $[CH_3-C(O)-N(H)-CH_2-CH_2-OH]$ i $[CH_2=C(OH)-N(H)-CH_2-CH_2-OH]$. W procesie CID obserwuje się również tworzenie jonów powstałych na skutek utraty takiej samej neutralnej cząsteczki, lecz różniących się ładunkiem, np. $[M-2A_{G2}+6H]^{6+}$ oraz $[M-2A_{G2}+5H]^{5+}$. Tabela 2 zawiera wszystkie jony potomne utworzone w procesie CID jonów $[M+6H]^{6+}$ dendrymeru PAPAMG2OH.

Tabela 2. Jony potomne powstające w wyniku procesu CID jonów $[M+6H]^{6+}$ dendrymeru PAPAMG2OH [109]

m/z	Masa zmierzona	Masa teoretyczna	Jon
333,2119	332,2046	332,2060	A_{G1}^+
345,2118	344,2045	344,2060	B_{G1}^+
361,4802	1441,8916	1441,8979	$[M-C-2A_{G2}+4H]^{4+}$
387,2458	1544,9540	1544,9613	$[M-C-A_{G2}+4H]^{4+}$
402,2509	802,4872	802,4912	B_{G0}^{2+}
413,0113	1648,0160	1648,0247	$[M-C+4H]^{4+}$
453,2877	2261,4020	2261,4155	$[M-2A_{G1}-B_{G1}+5H]^{5+}$
455,6879	2273,4030	2273,4155	$[M-3A_{G1}+5H]^{5+}$
473,9002	2364,4645	2364,4790	$[M-B_{G0}-A_{G2}+5H]^{5+}$
476,3002	2376,4645	2376,4790	$[M-A_{G0}-A_{G2}+5H]^{5+}$
477,3010	2857,7622	2857,7803	$[M-4A_{G2}+6H]^{6+}$
494,4780	2960,8242	2960,8438	$[M-3A_{G2}+6H]^{6+}$
496,9126	2479,5265	2479,5425	$[M-A_{G0}+5H]^{5+}$
511,6547	3063,8844	3063,9070	$[M-2A_{G2}+6H]^{6+}$
528,8323	3166,9500	3166,9702	$[M-A_{G2}+6H]^{6+}$
541,6734	1621,9983	1622,0090	C^{3+}
547,3437	2731,6820	2731,7011	$[M-2A_{G2}-A_{G1}+5H]^{5+}$
550,3451	1648,0134	1648,0247	$[M-C+3H]^{3+}$
565,3569	2821,7480	2821,7803	$[M-A_{G2}-3B_{G2}+5H]^{5+}$
567,7602	2833,7645	2833,7803	$[M-2A_{G2}-2B_{G2}+5H]^{5+}$
570,1592	2845,7595	2845,7803	$[M-3A_{G2}-B_{G2}+5H]^{5+}$
572,5589	2857,7580	2857,7803	$[M-4A_{G2}+5H]^{5+}$
585,9682	2924,8045	2924,8438	$[M-3B_{G2}+5H]^{5+}$
588,3725	2936,8260	2936,8438	$[M-A_{G2}-2B_{G2}+5H]^{5+}$
590,7715	2948,8210	2948,8438	$[M-2A_{G2}-B_{G2}+5H]^{5+}$
592,1224	2364,4604	2364,4792	$[M-A_{G2}-B_{G0}+4H]^{4+}$
611,3838	3051,8825	3051,9071	$[M-A_{G2}-B_{G2}+5H]^{5+}$
613,7838	3063,8825	3063,9071	$[M-2A_{G2}+5H]^{5+}$
617,8879	2467,5223	2467,5425	$[M-B_{G0}+4H]^{4+}$

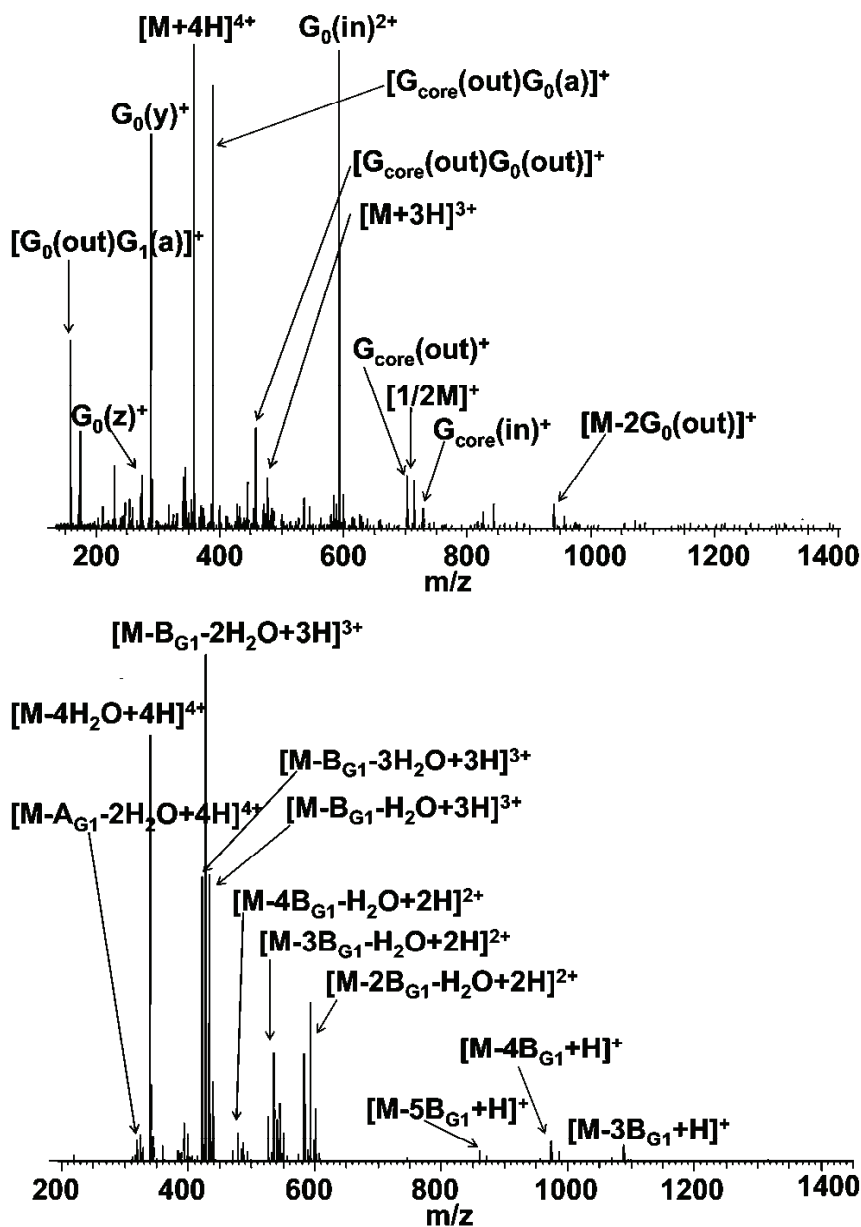
cd. tabeli 2

631,9963	3154,9450	3154,9704	$[M-B_{G_2}+5H]^{5+}$
634,3962	3166,9445	3166,9704	$[M-A_{G_2}+5H]^{5+}$
649,4096	2593,6092	2593,6217	$[M-A_{G_1}-B_{G_1}+4H]^{4+}$
652,4061	2605,5952	2605,6217	$[M-2A_{G_1}+4H]^{4+}$
655,1614	2616,6164	2616,6378	$[M-2A_{G_2}-B_{G_2}-A_{G_1}+4H]^{4+}$
680,9267	2719,6776	2719,7011	$[M-A_{G_2}-B_{G_2}-A_{G_1}+4H]^{4+}$
706,4392	2821,7276	2821,7805	$[M-A_{G_2}-3B_{G_2}+4H]^{4+}$
760,4725	1518,9304	1518,9457	$[C-A_{G_2}+2H]^{2+}$
791,4902	790,4829	790,4912	$A_{G_0}^+$
803,4901	802,4828	802,4912	$B_{G_0}^+$
812,0032	1621,9918	1622,0090	C^{2+}

[Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2008, 19, 1312-1319 DOI: 10.1016/j.jasms.2008.06.016, Kaczorowska, M., Cooper, H.J., "Electron Capture Dissociation, Electron Detachment Dissociation, and Collision-Induced Dissociation of Polyamidoamine (PAMAM) Dendrimer Ions with Amino, Amidoethanol, and Sodium Carboxylate Surface Groups.", supplementary section].

Analiza widma CID prowadzi do wniosku, że technika ta pozwala na dokładne poznanie zewnętrznej struktury cząsteczki, większość obserwowanych pików pochodzi od jonów potomnych powstałych na skutek rozerwania wiązań zlokalizowanych w generacji G_2 dendrymeru. Grupy powierzchniowe dendrymeru stanowią część odrywanych, obojętnych cząsteczek A_{G_2} i B_{G_2} .

Na rysunku 5 przedstawiono widma ECD i CID MS/MS wyizolowanych jonów $[M+4H]^{4+}$ dendrymeru PAPAMG1NH₂. Wszystkie jony potomne powstające w procesie ECD i CID zamieszczone są odpowiednio w tabelach 3 i 4. Widmo ECD jonów dendrymeru pierwszej generacji z ośmioma grupami powierzchniowymi NH₂ jest zdominowane przez piki pochodzące od jonów potomnych powstałych na skutek rozerwania wiązań zlokalizowanych w generacji G_0 ; $G_0(in)^{2+}$, $G_0(y)^+$. Jony $[G_{core}(out)G_0(a)]^+$ i $[G_0(out)G_1(a)]^+$ powstały w wyniku wtórnych procesów fragmentacji.



Źródło: [Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2008, 19, 1312-1319 DOI: 10.1016/j.jasms.2008.06.016, Kaczorowska, M., Cooper, H.J., "Electron Capture Dissociation, Electron Detachment Dissociation, and Collision-Induced Dissociation of Poly-amidoamine (PAMAM) Dendrimer Ions with Amino, Amidoethanol, and Sodium Carboxylate Surface Groups.", Figure 2].

Rys. 5. Widma masowe: (a) ECD FT-ICR i (b) CID FT-ICR jonów $[M+4H]^{4+}$ dendrymeru PAMAMG1NH2 [109]

Tabela 3. Jony potomne powstające w wyniku procesu ECD jonów $[M+4H]^{4+}$ dendrymeru PAMAMG1NH₂ [109]

m/z	Masa zmierzona	Masa teoretyczna	Jon
159,1366	158,1293	158,1293	$[G_0(out)G_1(a)]^+$
246,1921	245,1848	245,1852	$G_0(out)^+$
274,2234	273,2161	273,2165	$G_0(z)^+$
289,2342	288,2269	288,2274	$G_0(y)^+$
317,2290	316,2217	316,2223	$G_0(x)^+$
343,2445	342,2372	342,2379	$G_0(K_{out})^+$
349,2566	1392,9972	1392,9991	$[M-2H_2O+4H]^{4+}$
353,7592	1411,0076	1411,0099	$[M-H_2O+4H]^{4+}$
358,2617	1429,0176	1429,0204	$[M+4H]^{4+}$
388,3021	387,2948	387,2957	$[G_{core}(out)G_0(a)]^+$
457,3231	456,3158	456,3172	$[G_{core}(out)G_0(out)]^+$
471,3430	1411,0071	1411,0099	$[M-H_2O+3H]^{3+}$
477,3460	1429,0380	1429,0204	$[M+3H]^{3+}$
535,3909	1068,7672	1068,7720	$[M-G_0(K_{out})-H_2O+2H]^{2+}$
544,3967	1086,7788	1086,7825	$G_0(K_{in})^{2+}$
579,9147	1157,8148	1157,8196	$G_0(c)^{2+}$
583,9172	1165,8198	1165,8247	$[M-G_0(out)-H_2O+2H]^{2+}$
592,9225	1183,8304	1183,8352	$G_0(in)^{2+}$
614,4433	613,4360	613,4387	$[G_{core}(out)G_1(a)]^+$
702,5060	701,4987	701,5024	$G_{core}(out)^+$
714,5060	713,4987	713,5024	$[1/2M]^+$
728,5214	727,5141	727,5180	$G_{core}(in)^+$
939,6509	938,6436	938,6501	$[M-2G_0(out)]^+$

[Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2008, 19, 1312-1319 DOI: 10.1016/j.jasms.2008.06.016, Kaczorowska, M., Cooper, H.J., "Electron Capture Dissociation, Electron Detachment Dissociation, and Collision-Induced Dissociation of Polyamidoamine (PAMAM) Dendrimer Ions with Amino, Amidoethanol, and Sodium Carboxylate Surface Groups.", supplementary section].

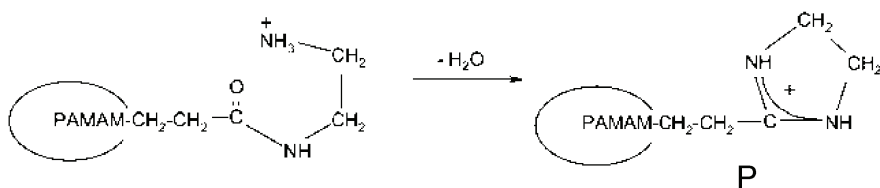
Tabela 4. Jony potomne powstające w wyniku procesu CID jonów $[M+4H]^{4+}$ dendrymeru PAMAMG1NH₂ [109]

m/z	Masa zmierzona	Masa teoretyczna	Jon
319,2338	1272,9060	1272,9094	$[M-A_{G1}-3H_2O+4H]^{4+}$
323,7365	1290,9168	1290,9199	$[M-A_{G1}-2H_2O+4H]^{4+}$
328,2391	1308,9272	1308,9305	$[M-A_{G1}-H_2O+4H]^{4+}$
332,7416	1326,9372	1326,9412	$[M-A_{G1}+4H]^{4+}$
340,2509	1356,9744	1356,9781	$[M-4H_2O+4H]^{4+}$
344,7535	1374,9848	1374,9886	$[M-3H_2O+4H]^{4+}$
349,2561	1392,9952	1392,9991	$[M-2H_2O+4H]^{4+}$
387,2827	1158,8262	1158,8301	$[M-A_{G1}-B_{G1}-3H_2O+3H]^{3+}$
393,2862	1176,8367	1176,8407	$[M-A_{G1}-B_{G1}-2H_2O+3H]^{3+}$
399,2897	1194,8472	1194,8512	$[M-A_{G1}-B_{G1}-H_2O+3H]^{3+}$
415,3054	1242,8943	1242,8988	$[M-B_{G1}-4H_2O+3H]^{3+}$
421,3088	1260,9045	1260,9094	$[M-B_{G1}-3H_2O+3H]^{3+}$
427,3121	1278,9144	1278,9199	$[M-B_{G1}-2H_2O+3H]^{3+}$
433,3157	1296,9252	1296,9305	$[M-B_{G1}-H_2O+3H]^{3+}$
439,3193	1314,9360	1314,9412	$[M-B_{G1}+3H]^{3+}$
469,3462	936,6778	936,6820	$[M-4B_{G1}-2H_2O+2H]^{2+}$
478,3514	954,6882	954,6926	$[M-4B_{G1}-H_2O+2H]^{2+}$
484,3515	966,6884	966,6925	$[M-A_{G1}-3B_{G1}-H_2O+2H]^{2+}$
487,3565	972,6984	972,7031	$[M-4B_{G1}+2H]^{2+}$
493,3566	984,6986	984,7031	$[M-A_{G1}-3B_{G1}+2H]^{2+}$
499,3565	996,6984	996,7031	$[M-2A_{G1}-2B_{G1}+2H]^{2+}$
526,3853	1050,7560	1050,7614	$[M-3B_{G1}-2H_2O+2H]^{2+}$
532,3852	1062,7558	1062,7614	$[M-A_{G1}-2B_{G1}-2H_2O+2H]^{2+}$
535,3904	1068,7662	1068,7720	$[M-3B_{G1}-H_2O+2H]^{2+}$
541,3904	1080,7662	1080,7720	$[M-A_{G1}-2B_{G1}-H_2O+2H]^{2+}$
544,3956	1086,7766	1086,7825	$[M-3B_{G1}+2H]^{2+}$
547,3902	1092,7658	1092,7720	$[M-2A_{G1}-B_{G1}-H_2O+2H]^{2+}$
550,3955	1098,7764	1098,7825	$[M-A_{G1}-2B_{G1}+2H]^{2+}$
556,3955	1110,7764	1110,7825	$[M-2A_{G1}-B_{G1}+2H]^{2+}$
583,4241	1164,8336	1164,8407	$[M-2B_{G1}-2H_2O+2H]^{2+}$
589,4241	1176,8336	1176,8407	$[M-A_{G1}-B_{G1}-2H_2O+2H]^{2+}$
592,4293	1182,8440	1182,8512	$[M-2B_{G1}-H_2O+2H]^{2+}$
598,4291	1194,8436	1194,8512	$[M-A_{G1}-B_{G1}-H_2O+2H]^{2+}$
601,4345	1200,8544	1200,8617	$[M-2B_{G1}+2H]^{2+}$
607,4345	1212,8544	1212,8617	$[M-A_{G1}-B_{G1}+2H]^{2+}$
859,6230	858,6157	858,6239	$[M-5B_{G1}+H]^+$
871,6236	870,6163	870,6239	$[M-A_{G1}-4B_{G1}+H]^+$
973,6998	972,6925	972,7031	$[M-4B_{G1}+H]^+$
985,6996	984,6923	984,7031	$[M-A_{G1}-3B_{G1}+H]^+$
1087,7753	1086,7680	1086,7825	$[M-3B_{G1}+H]^+$

[Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2008, 19, 1312-1319 DOI: 10.1016/j.jasms.2008.06.016, Kaczorowska, M., Cooper, H.J., "Electron Capture Dissociation, Electron Detachment Dissociation, and Collision-Induced Dissociation of Polyamidoamine (PAMAM) Dendrimer Ions with Amino, Amidoethanol, and Sodium Carboxylate Surface Groups.", supplementary section].

Prawdopodobnie po rozerwaniu wiązania amidowego nastąpiło oderwanie cząsteczki CO oraz rozerwanie wiązania trzeciorzędowej grupy aminowej. Wtórne procesy fragmentacji, w wyniku których nastąpiło rozerwanie łańcucha polimeru w miejscu oznaczonym „a” (rys. 2), obserwuje się dla obu dendrymerów: PAMAMG1NH₂ oraz PAMAMG2OH.

Wszystkie obserwowane procesy fragmentacji ECD dendrymeru PAMAMG1NH₂ związane są z rozerwaniem wiązań zlokalizowanych w wewnętrznych warstwach cząsteczki. Grupy powierzchniowe NH₂ nie wpływają na przebieg tego procesu. Dominującymi procesami dysocjacji CID jonów [M+4H]⁴⁺ dendrymeru PAMAMG1NH₂ są: równoczesna utrata cząsteczek wody oraz neutralnych fragmentów A_{G1} i B_{G1} w różnym stosunku stechiometrycznym. Fragmenty A_{G1} i B_{G1} są odpowiednikami fragmentów A_{G2} i B_{G2} obserwowanych w przypadku dysocjacji CID dendrymeru PAMAMG2OH. Fakt, że utrata cząsteczek wody jest zjawiskiem dominującym w przypadku fragmentacji CID dendrymeru mającego aminowe grupy powierzchniowe oraz brak takich procesów w przypadku dendrymeru zawierającego hydroksylowe grupy powierzchniowe jest zaskakujący. Nietypowe zachowanie jonów dendrymeru PAMAMG1NH₂ w procesie dysocjacji CID może być wynikiem utworzenia stabilnego kationu P, przedstawionego na rysunku 6.



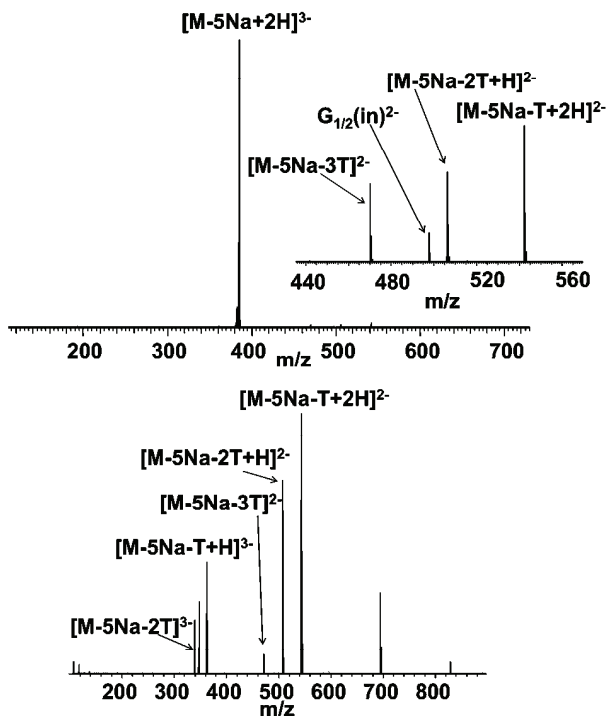
Źródło: [Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2008, 19, 1312-1319 DOI: 10.1016/j.jasms.2008.06.016, Kaczorowska, M., Cooper, H.J., “Electron Capture Dissociation, Electron Detachment Dissociation, and Collision-Induced Dissociation of Poly-amidoamine (PAMAM) Dendrimer Ions with Amino, Amidoethanol, and Sodium Carboxylate Surface Groups.”, Scheme 4].

Rys. 6. Proponowany mechanizm utraty cząsteczki wody z dendrymeru PAMAMG1NH₂ [109]

Kation P jest szczególnie stabilny na skutek delokalizacji ładunku pomiędzy dwoma atomami azotu. Teorię tworzenia stabilnego kationu P potwierdzają wyniki badania procesów deaminacji i dehydratacji obserwowanych podczas dysocjacji CID protonowanych peptydów zawierających N-terminalną glutaminę [144]. Z badań wynika, że obecność „mobilnych protonów” przyczynia się do utworzenia protonowanego pięcioczłonowego pierścienia aminopyrolinowego oraz utraty cząsteczek wody. W przypadku gdy nie ma „mobilnych protonów”, w procesie dysocjacji CID dochodzi do utraty cząsteczek NH₃. W jonach [M+4H]⁴⁺ dendrymeru PAMAMG1NH₂ obecne są aż cztery protony i w związku z tym można zaobserwować procesy utraty maksymalnie czterech cząsteczek

wody. Jak wynika z analizy danych dotyczących fragmentacji CID wszystkich utworzonych jonów badanego dendrymeru, utrata obojętnych cząsteczek w procesie fragmentacji zależy od ładunku analizowanego jonu; dla jonów obdarzonych większym ładunkiem ($>2+$) dominującym procesem jest utrata cząsteczek wody, w przypadku jonów obdarzonych mniejszym ładunkiem obserwuje się utratę NH_3 .

Dendrymer PAMAM generacji 0,5 z ośmioma grupami powierzchniowymi $-\text{COONa}$ tworzy w wyniku elektrorozpylania szereg anionów mających mieszane grupy powierzchniowe: $-\text{COONa}$ i $-\text{COOH}$ w różnym stosunku stechiometrycznym. Na rysunku 7 przedstawiono widma masowe EDD i CID jonów $[\text{M}-5\text{Na}+2\text{H}]^{3-}$.



Źródło: [Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2008, 19, 1312-1319 DOI: 10.1016/j.jasms.2008.06.016, Kaczorowska, M., Cooper, H.J., "Electron Capture Dissociation, Electron Detachment Dissociation, and Collision-Induced Dissociation of Polyamidoamine (PAMAM) Dendrimer Ions with Amino, Amidoethanol, and Sodium Carboxylate Surface Groups.", Figure 3].

Rys. 7. Widmo masowe EDD FT-ICR (góra) i CID FT-ICR (dół) jonów $[\text{M}-5\text{Na}+2\text{H}]^{3-}$ dendrymeru PAMAMG0.5COONa [109]

Spektrum masowe EDD jest zdominowane przez piki, które odpowiadają utracie jednego, dwóch lub trzech fragmentów T: $[\text{CH}_2=\text{CH}-\text{C}(\text{O})-\text{O}]^-$ ($\Delta m = 71,01333$) w wyniku rozerwania wiązań trzeciorzędowych grup amino-

wych. Utratę fragmentów T można również obserwować w procesie dysocjacji CID jonów $[M-5Na+2H]^3+$. W przypadku widma EDD zwrócono także uwagę na obecność piku odpowiadającego jonowi potomnemu $[G_{1/2}(in)]^{2-}$ (m/z 497,7054). Fragmentacja tego typu zachodziła również w przypadku procesów ECD przeprowadzonych dla jonów dodatnich dendrymerów PAMAMG1NH₂ i PAMAMG2OH.

Na podstawie wyników przeprowadzonych eksperymentów tandemowej spektrometrii mas można wysnuć wniosek, że metody fragmentacji oparte na oddziaływaniu jon-elektron (ECD, EDD) zastosowane do badania budowy jonów dendrymerów PAMAM, różniących się zarówno liczbą generacji, jak i rodzajem grup powierzchniowych, są związane z procesami protonowania trzeciorzędowych grup aminowych oraz obecnością grup amidowych w łańcuchach dendrymerów.

Liczba generacji związku ma istotny wpływ na obserwowane procesy dysocjacji jonów wskutek wychwytu elektronów. Widma masowe ECD są zdominowane przez piki, które odpowiadają jonom potomnym powstałym w wyniku rozerwania wiązań zlokalizowanych w wewnętrznych generacjach dendrymerów. Najbardziej intensywne sygnały na widmach ECD jonów dendrymerów PAMAMG1NH₂ i PAMAMG2OH są tego samego typu: Gn(y), Gn(in) i Gn(out), gdzie n odpowiada najbardziej wewnętrznym generacjom; $n = 0, 1$ w przypadku PAMAMG2OH i $n = 0$, w przypadku PAMAMG1NH₂. Rozerwanie wiązania trzeciorzędowej grupy aminowej zlokalizowanej w wewnętrznej części cząsteczki zaobserwowano również w procesie EDD przeprowadzonym dla jonów dendrymeru PAMAMG0.5COONa. Procesy fragmentacji oparte na oddziaływaniu jon-elektron (ECD, EDD) są niezależne od rodzaju grup powierzchniowych.

W przeciwieństwie do ECD i EDD procesy fragmentacji CID przebiegają w zewnętrznych partiach badanych jonów dendrymerów i w dużym stopniu zależą od rodzaju grup powierzchniowych. Nie zaobserwowano wpływu liczby generacji związku na procesy dysocjacji CID. Analiza widm masowych ECD, EDD oraz CID jonów dendrymerów PAMAMG1NH₂, PAMAMG2OH oraz PAMAMG0.5COONa prowadzi do wniosku, że metody fragmentacji oparte na oddziaływaniu jon-elektron dostarczają szczegółowych informacji na temat wewnętrznej budowy związków, natomiast tradycyjna metoda CID pozwala na określenie rodzaju grup powierzchniowych i uzyskanie danych na temat budowy generacji zewnętrznych. Jedynie zastosowanie obu metod fragmentacji pozwala na uzyskanie pełnych informacji o strukturze badanych związków. Wyniki dowodzą, że kombinacja metod tandemowej spektrometrii mas ECD (EDD) i CID ESI-FTICR jest potencjalnie doskonałym narzędziem do badania struktury dendrymerów.

5. BADANIE STRUKTURY KOMPLEKSÓW JONÓW METALI: Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} Z DENDRYMERAMI POLIAMIDOAMINOWYMI PAMAM ZA POMOCĄ METOD CID I ECD MS²

Dendrymery PAMAM mają szczególnie duże znaczenie jako czynniki chelatujące jony metali [145-150]. Kompleksy składające się z cząsteczki dendrymeru, wewnątrz której w ściśle określonych miejscach jony metali zostają przyłączone za pomocą wiązań koordynacyjnych, mają duże zastosowanie między innymi w procesach katalizy homogenicznej, jak i heterogenicznej [151]. Wyprodukowanie kompleksu składającego się z jonów metali zlokalizowanych wewnątrz cząsteczki dendrymeru PAMAM jest wieloetapowym, złożonym procesem. Najczęściej proces ten składa się z takich etapów, jak: synteza dendrymeru, kompleksowanie jonów metalu, redukcja oraz nukleacja jonów metalu [130, 152-154]. O miejscu przyłączenia jonu metalu wewnątrz cząsteczki dendrymeru PAMAM decyduje zarówno budowa dendrymeru (rodzaj rdzenia, liczba generacji, rodzaj grup powierzchniowych), jak i właściwości metalu. Obecność w cząsteczce czynnika chelatującego wielu miejsc, do których może przyłączyć się za pomocą wiązań koordynacyjnych jon metalu, może wywoływać zjawisko wewnętrznej migracji kationu [155]. Różnice we właściwościach metali (różna liczba powłok elektronowych, elektronów walencyjnych itd.) mogą być wykorzystywane do produkcji kompleksów zawierających dwa (lub więcej) różne jony metali oraz w procesach wymiany jednego chelatowanego jonu metalu na inny jon [144, 156]. W przypadku dendrymerów PAMAM o dużej liczbie generacji w przyłączaniu jonu metalu biorą udział głównie wewnętrzne, trzeciorzędowe grupy aminowe, z kolei gdy czynnikiem chelatującym jest dendrymer o małej liczbie generacji, wówczas jon metalu może zostać przyłączony na skraj cząsteczki [157].

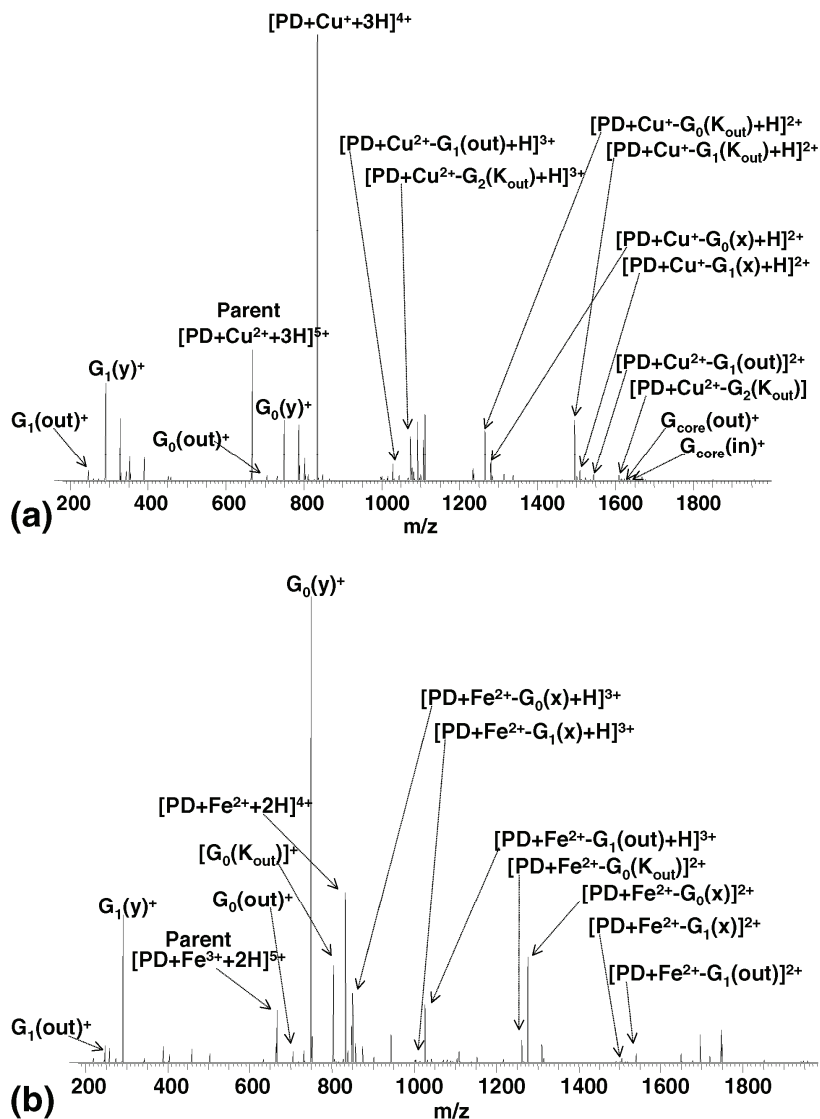
Wzrost zainteresowania nanopartykułami metali wewnątrz cząsteczek dendrymerów powoduje, że istnieje potrzeba opracowania techniki, która pozwalałaby na scharakteryzowanie zarówno struktury kompleksu dendrymeru z metalem/metalami, jak i samego czynnika chelatującego, czyli dendrymeru. Zdaniem Schalleya [158], metody spektrometrii mas pełnią ważną rolę w procesie analizy różnego rodzaju dendrymerów, ponieważ pozwalają określić stopień czystości związku, wykryć defekty wyprodukowanych dendrymerów oraz umożliwiają zbadanie wyizolowanych cząsteczek tych związków lub ich kompleksów, np. z metalami w fazie gazowej. Jedną z technik spektrometrii mas najczęściej stosowanych do badania budowy i właściwości dendrymerów jest MALDI. Istnieją jednak prace badawcze, które dowodzą, że technika ta często zawodzi, np. wówczas, gdy badane dendrymery mają grupy funkcyjne absorbujące światło o długości fali odpowiadającej laserowi MALDI [159, 160]. Dotychczas pory stosunkowo rzadko do badania budowy dendrymerów i ich kompleksów z metalami stosowano spektrometry FT-ICR; Brodbelt ze współpra-

ownikami [141] zastosowali technikę CID do badania budowy dendrymeru trzeciej generacji oraz kompleksów, jakie tworzy on z jonami srebra, natomiast Oh wraz ze współpracownikami [143] wykorzystali metodę fragmentacji ECD do zbadania struktury dendrymeru PAMAM trzeciej generacji.

W opracowaniu przedstawiono wyniki badania budowy kompleksów jonów metali Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} oraz Fe^{3+} z dendrymerem PAMAM trzeciej generacji, posiadającym 16 amidoetanolowych grup funkcyjnych oraz etylenodiaminowy rdzeń (rys. 1), za pomocą metod CID i ECD tandemowej spektrometrii mas. Wyniki te opublikowano w pracy [110]. Celem projektu było sprawdzenie, czy badania oparte na wykorzystaniu tych metod dostarczają wyczerpujących informacji na temat budowy kompleksów metali z dendrymerami PAMAM.

Elektrozpylanie roztworów zawierających jednakowe stężenia dendrymeru oraz soli odpowiednich metali skutkuje utworzeniem kompleksów o wzorze ogólnym $[\text{PD}+\text{M}^{n+}+\text{mH}]^{(n+m)+}$, gdzie PD oznacza dendrymer PAMAM, M – jon metalu, n – stopień utlenienia jonu metalu, m – liczbę protonów. Stosując roztwory zawierające większe stężenie soli metali spowodowano, że elektrozpylanie wywołało powstanie kompleksów zawierających dwa lub trzy jony metalu: $[\text{PD}+2\text{M}^{n+}+\text{mH}]^{(2n+m)+}$ i $[\text{PD}+3\text{M}^{n+}+\text{mH}]^{(3n+m)+}$, jednak intensywność odpowiadających im pików na widmie masowym była znacznie mniejsza niż w przypadku kompleksów zawierających pojedynczy jon metalu. Przedstawione wyniki dotyczą jonów macierzystych o wzorze ogólnym $[\text{PD}+\text{M}^{n+}+\text{mH}]^{5+}$, podobne procesy fragmentacji obserwowano dla wszystkich kationów zawierających ten sam metal: w przypadku Ag^+ dla $[\text{PD}+\text{Ag}^++2\text{H}]^{3+}$ i $[\text{PD}+\text{Ag}^++3\text{H}]^{4+}$.

Ze względu na różnice i podobieństwa w procesie fragmentacji ECD jonów chelatów utworzonych przez przyłączenie za pomocą wiązań koordynacyjnych jonów metali do dendrymeru PAMAM badane kompleksy podzielono na dwie grupy. Na rysunku 8 przedstawiono widma ECD jonów macierzystych $[\text{PD}+\text{Cu}^{2+}+3\text{H}]^{5+}$ oraz $[\text{PD}+\text{Fe}^{3+}+2\text{H}]^{5+}$, tabela 5 zawiera dane charakteryzujące jony potomne utworzone w tych procesach. Rysunek 9 przedstawia widma ECD jonów: $[\text{PD}+\text{Ag}^++4\text{H}]^{5+}$, $[\text{PD}+\text{Zn}^{2+}+3\text{H}]^{5+}$, $[\text{PD}+\text{Fe}^{2+}+3\text{H}]^{5+}$, a tabela 6 informacje dotyczące jonów potomnych powstających w wyniku ich fragmentacji na skutek wychwytu elektronu. Sposób oznaczenia miejsc w cząsteczce dendrymeru PAMAM, w których w procesie fragmentacji ECD dochodzi do rozerwania wiązań jest zgodny z tym, który przedstawiono na rysunku 2.



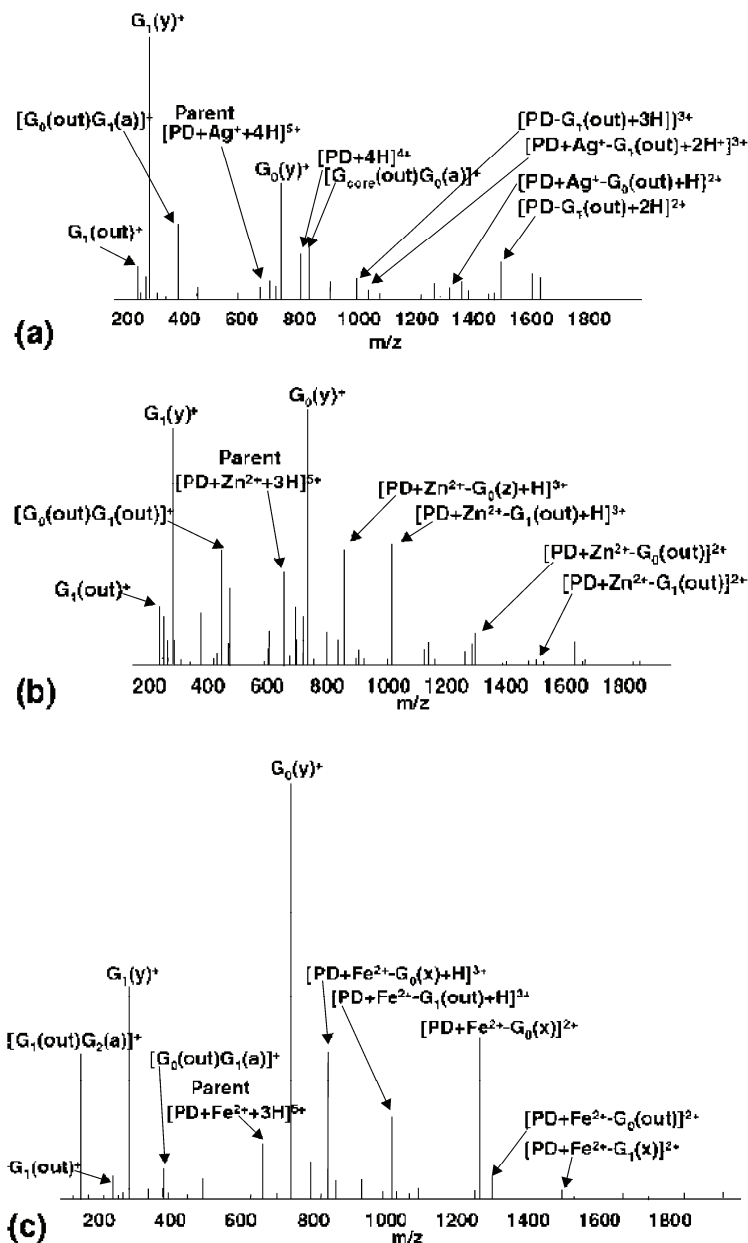
Źródło: [Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2009, 20, 674-681 DOI: 10.1016/j.jasms.2008.12.013, Kaczorowska, M.A., Cooper, H.J., "Electron Capture Dissociation and Collision-Induced Dissociation of Metal Ion (Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , and Fe^{3+}) Complexes of Polyamidoamine (PAMAM) Dendrimers", Figure 1].

Rys. 8. Widmo masowe ECD ESI FT-ICR jonów macierzystych (a) $[PD+Cu^{2+}+3H]^{5+}$, (b) $[PD+Fe^{3+}+2H]^{5+}$ [110]

Tabela 5. Jony potomne utworzone w wyniku procesu ECD jonów $^a[\text{PD}+\text{Cu}^{2+}+3\text{H}]^{5+}$ oraz $^b[\text{PD}+\text{Fe}^{3+}+2\text{H}]^{5+}$, PD = PAMAMG2OH [110]

m/z doświadczalne	m/z teoretyczne	Jon
a248,1604 , b248,1602	248,1610	$\text{G}_1(\text{out})^+$
b260,1603	260,1605	$[\text{G}_1(\text{x})\text{G}_2(\text{y})]^+$
a291,2026 , b291,2024	291,2027	$\text{G}_1(\text{y})^+$
a345,2131 , b345,2127	345,2138	$\text{G}_1(\text{K}_{\text{out}})^+$
a329,2182	329,2189	$[\text{G}_1(\text{K}_{\text{out}})-\text{H}_2\text{O}]^+$
a389,2635 , b389,2627	389,2633	$[\text{G}_0(\text{out})\text{G}_1(\text{a})]^+$
b459,2918	459,2926	$[\text{G}_0(\text{out})\text{G}_1(\text{out})]^+$
a706,4452 , b706,4441	706,4458	$\text{G}_0(\text{out})^+$
a732,4612 , b732,4600	732,4614	$\text{G}_0(\text{z})^+$
a749,4875 , b749,4863	749,4880	$\text{G}_0(\text{y})^+$
a803,4981 , b803,4967	803,4985	$\text{G}_0(\text{Kout})^+$
b831,9933	831,9958	$[\text{PD}+\text{Fe}^{2+}+2\text{H}]^{4+}$
a833,9954	833,9988	$[\text{PD}+\text{Cu}^++3\text{H}]^{4+}$
b850,5003	850,5029	$[\text{PD}+\text{Fe}^{2+}-\text{G}_0(\text{x})+\text{H}]^{3+}$
a996,5874	996,5913	$[\text{PD}+\text{Cu}^+-\text{G}_1(\text{Kout})+2\text{H}]^{3+}$
b1003,2587	1003,2644	$[\text{PD}+\text{Fe}^{2+}-\text{G}_1(\text{x})+\text{H}]^{3+}$
b1026,6039	1026,6075	$[\text{PD}+\text{Fe}^{2+}-\text{G}_1(\text{out})+\text{H}]^{3+}$
a1028,9376	1028,9426	$[\text{PD}+\text{Cu}^{2+}-\text{G}_1(\text{out})+\text{H}]^{3+}$
a1072,9678	1072,9725	$[\text{PD}+\text{Cu}^{2+}-\text{G}_2(\text{Kout})+\text{H}]^{3+}$
a1091,0176	1091,0185	$[\text{PD}+3\text{H}]^{3+}$
a1111,3223	1111,3270	$[\text{PD}+\text{Cu}^{2+}+\text{H}]^{3+}$
a1234,7770	1234,7785	$[\text{PD}-\text{G}_0(\text{K}_{\text{out}})+2\text{H}]^{2+}$
b1261,2291	1261,2350	$[\text{PD}+\text{Fe}^{2+}-\text{G}_0(\text{K}_{\text{out}})]^{2+}$
a1265,2340	1265,2411	$[\text{PD}+\text{Cu}^+-\text{G}_0(\text{K}_{\text{out}})+\text{H}]^{2+}$
b1275,2447	1275,2505	$[\text{PD}+\text{Fe}^{2+}-\text{G}_0(\text{x})]^{2+}$
a1279,2493	1279,2567	$[\text{PD}+\text{Cu}^+-\text{G}_0(\text{x})+\text{H}]^{2+}$
b1309,7560	1309,7614	$[\text{PD}+\text{Fe}^{2+}-\text{G}_0(\text{out})]^{2+}$
a1494,3766	1494,3834	$[\text{PD}+\text{Cu}^+-\text{G}_1(\text{K}_{\text{out}})+\text{H}]^{2+}$
b1504,4050	1504,3930	$[\text{PD}+\text{Fe}^{2+}-\text{G}_1(\text{x})]^{2+}$
a1508,3915	1508,3988	$[\text{PD}+\text{Cu}^+-\text{G}_1(\text{x})+\text{H}]^{2+}$
a1522,3918	1522,3962	$[\text{PD}+\text{Cu}^+-\text{G}_1(\text{y})+\text{H}]^{2+}$
b1539,3983	1539,4077	$[\text{PD}+\text{Fe}^{2+}-\text{G}_1(\text{out})]^{2+}$
a1542,9039	1542,9100	$[\text{PD}+\text{Cu}^{2+}-\text{G}_1(\text{out})]^{2+}$
a1609,4513	1609,4586	$[\text{PD}+\text{Cu}^{2+}-\text{G}_2(\text{K}_{\text{out}})]^{2+}$
a1623,0138	1623,0163	$\text{G}_{\text{core}}(\text{out})^+$
a1649,0307 , b1649,0253	1649,0320	$\text{G}_{\text{core}}(\text{in})^+$

[Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2009, 20, 674-681 DOI: 10.1016/j.jasms.2008.12.013, Kaczorowska, M.A., Cooper, H.J., "Electron Capture Dissociation and Collision-Induced Dissociation of Metal Ion (Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , and Fe^{3+}) Complexes of Polyamidoamine (PAMAM) Dendrimers", supplementary section].



Źródło: [Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2009, 20, 674-681 DOI: 10.1016/j.jasms.2008.12.013, Kaczorowska, M.A., Cooper, H.J., "Electron Capture Dissociation and Collision-Induced Dissociation of Metal Ion (Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , and Fe^{3+}) Complexes of Polyamidoamine (PAMAM) Dendrimers", Figure 2].

Rys. 9. Widmo masowe ECD ESI FT-ICR jonów macierzystych (a) $[PD+Ag^++4H]^{5+}$, (b) $[PD+Zn^{2+}+3H]^{5+}$, (c) $[PD+Fe^{2+}+3H]^{5+}$ [110]

Tabela 6. Jony potomne utworzone w wyniku procesu ECD jonów ${}^c[\text{PD}+\text{Ag}^++4\text{H}]^{5+}$, ${}^d[\text{PD}+\text{Zn}^{2+}+3\text{H}]^{5+}$, ${}^e[\text{PD}+\text{Fe}^{2+}+3\text{H}]^{5+}$, PD = PAMAMG2OH [110]

m/z doświadczalne	m/z teoretyczne	Jon
c160,1207	160,1206	$[\text{G}_1(\text{out})\text{G}_2(\text{a})]^+$
c248,1605 , d248,1605 , e248,1602	248,1610	$\text{G}_1(\text{out})^+$
d260,1604	260,1605	$[\text{G}_1(\text{x})\text{G}_2(\text{y})]^+$
c274,1762 , d274,1761 , e274,1758	274,1761	$\text{G}_1(\text{z})^+$
c291,2027 , d291,2027 , e291,2023	291,2027	$\text{G}_1(\text{y})^+$
c345,2133 , d345,2128 , e345,2129	345,2138	$\text{G}_1(\text{K}_{\text{out}})^+$
c389,2633 , d389,2634 , e389,2627	389,2633	$[\text{G}_0(\text{out})\text{G}_1(\text{a})]^+$
c459,2927 , d459,2928 , e459,2911	459,2926	$[\text{G}_0(\text{out})\text{G}^1(\text{out})]^+$
c706,4463 , d706,4465 , e706,4443	706,4458	$\text{G}_0(\text{out})^+$
c718,4464	718,4458	$[\text{G}_0(\text{x})\text{G}_2(\text{y})]^+$
c732,4620 , d732,4628	732,4614	$\text{G}_0(\text{z})^+$
c749,4886 , d749,4889 , e749,4861	749,4880	$\text{G}_0(\text{y})^+$
c803,4988 , d803,4986 , e803,4960	803,4985	$\text{G}_0(\text{K}_{\text{out}})^+$
c818,5161	818,5157	$[\text{PD}+4\text{H}]^{4+}$
c831,9924	831,9958	$[\text{PD}+\text{Fe}^{2+}+2\text{H}]^{4+}$
c848,5571 , d848,5576 , e848,5537	848,5564	$[\text{G}_{\text{core}}(\text{out})\text{G}_0(\text{a})]^+$
c850,5008	850,5029	$[\text{PD}+\text{Fe}^{2+}-\text{G}_0(\text{x})+\text{H}]^{3+}$
d867,8395	867,8387	$[\text{PD}+\text{Zn}^{2+}-\text{G}_0(\text{z})+\text{H}]^{3+}$
c917,5789	917,5779	$[\text{G}_{\text{core}}(\text{out})\text{G}_0(\text{out})]^+$
c1008,6334	1008,6343	$[\text{PD}-\text{G}_1(\text{out})+3\text{H}]^{3+}$
c1026,6028	1026,6075	$[\text{PD}+\text{Fe}^{2+}-\text{G}_1(\text{out})+\text{H}]^{3+}$
d1029,2738	1029,2724	$[\text{PD}+\text{Zn}^{2+}-\text{G}_1(\text{out})+\text{H}]^{3+}$
c1043,9342	1043,9336	$[\text{PD}+\text{Ag}^+-\text{G}_1(\text{out})+2\text{H}]^{3+}$
c1261,2319	1261,2350	$[\text{PD}+\text{Fe}^{2+}-\text{G}_0(\text{K}_{\text{out}})]^{2+}$
c1275,2469	1275,2505	$[\text{PD}+\text{Fe}^{2+}-\text{G}_0(\text{x})]^{2+}$
c1283,3075	1283,3049	$[\text{PD}-\text{G}_0(\text{out})+2\text{H}]^{2+}$
d1301,2564	1301,2544	$[\text{PD}+\text{Zn}^{2+}-\text{G}_0(\text{z})]^{2+}$
c1309,7560	1309,7614	$[\text{PD}+\text{Fe}^{2+}-\text{G}_0(\text{out})]^{2+}$
d1314,2654	1314,2622	$[\text{PD}+\text{Zn}^{2+}-\text{G}_0(\text{out})]^{2+}$
c1336,2553	1336,2540	$[\text{PD}+\text{Ag}^+-\text{G}_0(\text{out})+\text{H}]^{2+}$
c1512,4498	1512,4478	$[\text{PD}-\text{G}_1(\text{out})+2\text{H}]^{2+}$
d1521,3803	1521,3850	$[\text{PD}+\text{Zn}^{2+}-\text{G}(\text{y})]^{2+}$
c1623,0185	1623,0163	$\text{G}_{\text{core}}(\text{out})^+$
c1649,0345 , d1649,0372	1649,0320	$\text{G}_{\text{core}}(\text{in})^+$

[Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2009, 20, 674-681 DOI: 10.1016/j.jasms.2008.12.013, Kaczorowska, M.A., Cooper, H.J., "Electron Capture Dissociation and Collision-Induced Dissociation of Metal Ion (Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{3+}) Complexes of Polyamidoamine (PAMAM) Dendrimers", supplementary section].

Najbardziej intensywnym pikiem na widmie ECD jonów kompleksu $[\text{PD}+\text{Cu}^{2+}+3\text{H}]^{5+}$ (rys. 8a) jest pik odpowiadający kompleksowi o zredukowanym ładunku $[\text{PD}+\text{Cu}^++3\text{H}]^{4+}$, który powstaje na skutek wychwytu jednego

elektronu przez dwuwartościowy jon miedzi. Seria pików pochodzących od jonów utworzonych w wyniku dysocjacji tego kompleksu, takich jak $[\text{PD}+\text{Cu}^+-\text{G}_0(\text{K}_{\text{out}})+\text{H}]^{2+}$ i $[\text{PD}+\text{Cu}^+-\text{G}_0(\text{x})+\text{H}]^{2+}$, jest również widoczna na widmie MS/MS. Wszystkie fragmenty zawierające jednowartościowy kation miedzi powstały na skutek rozerwania wiązań trzeciorzędowych grup aminowych dendrymeru, mieszczących się po stronie grup powierzchniowych (oznaczone jako K) lub wiązania grupy amidowej, usytuowanego po stronie rdzenia (oznaczone jako a/x). Reakcje fragmentacji tego typu nie były obserwowane w przypadku procesów ECD protonowanych dendrymerów [109]. Jony potomne, zawierające dwuwartościowy kation miedzi, np. $[\text{PD}+\text{Cu}^{2+}-\text{G}_1(\text{out})]^{2+}$, $[\text{PD}+\text{Cu}^{2+}-\text{G}_1(\text{out})+\text{H}]^{3+}$ są rezultatem procesu wychwytu elektronu przez ligand dendrymeru. Nie można jednoznacznie stwierdzić, czy jony fragmentacyjne niezawierające metalu powstały na skutek wychwytu elektronu przez ligand, czy też przez kation metalu; są one jednak podobne do tych obserwowanych w procesie ECD protonowanych dendrymerów.

Widmo masowe jonów kompleksu $[\text{PD}+\text{Fe}^{3+}+2\text{H}]^{5+}$ (rys. 8b) zawiera szereg intensywnych pików odpowiadających jonom potomnym o zredukowanym ładunku, powstałym na skutek wychwytu elektronu przez trójwartościowy kation żelaza: $[\text{PD}+\text{Fe}^{2+}-\text{G}_0(\text{x})]^{2+}$, $[\text{PD}+\text{Fe}^{2+}-\text{G}_0(\text{K}_{\text{out}})]^{2+}$, $[\text{PD}+\text{Fe}^{2+}-\text{G}_1(\text{x})]^{2+}$, $[\text{PD}+\text{Cu}^{2+}-\text{G}_0(\text{x})+\text{H}]^{3+}$. Nie zaobserwowano jonów potomnych, zawierających trójwartościowy kation żelaza, co sugeruje, że kation żelaza „łatwiej” wychwytuje elektron niż dwuwartościowy kation miedzi (i dendrymer). Podobnie jak w przypadku chelatów zawierających kation miedzi rozrywanie wiązań grup amidowych zlokalizowanych po stronie rdzenia (a/x) jest dominującym procesem fragmentacji ECD kompleksów dendrymeru PAMAM z kationem Fe^{3+} .

Jony potomne, powstające na skutek rozerwania wiązania trzeciorzędowej grupy aminowej, zlokalizowanego po stronie grup powierzchniowych (piki zawierające literę K na spektrum), są również obserwowane. Jednak w odróżnieniu od jonów kompleksów dendrymer/ Cu^{2+} , widmo ECD jonów chelatów zawierających Fe^{3+} jest zdominowane przez piki pochodzące od jonów potomnych, powstałych w wyniku rozerwania wiązań amidowych i trzeciorzędowych grup aminowych ligandu: $\text{G}_0(\text{y})^+$, $\text{G}_1(\text{y})^+$, $\text{G}_0(\text{out})^+$. Nie jest jasne, czy fragmenty te powstały na skutek wychwytu elektronu przez kation metalu czy przez ligand.

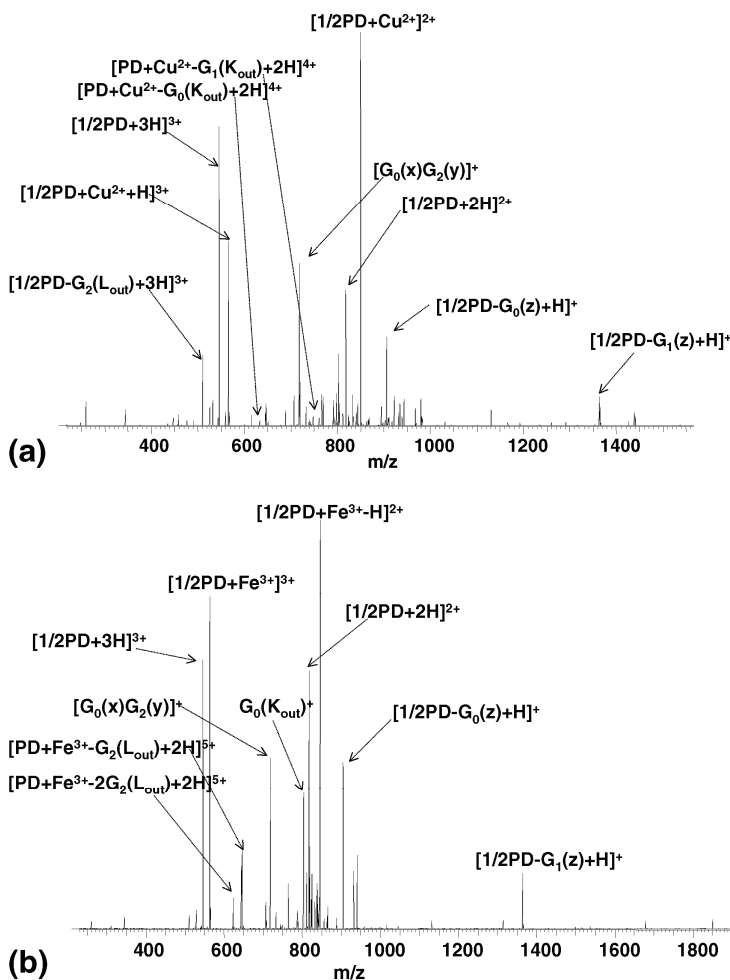
Widma ECD MS/MS jonów kompleksów dendrymerów PAMAM z kationami Ag^+ , Zn^{2+} , Fe^{2+} (rysunki 9a, b, c) zawierają piki odpowiadające fragmentom powstałym w wyniku rozerwania wiązań grup amidowych i trzeciorzędowych grup aminowych, zlokalizowanych w wewnętrznych generacjach ligandu, podobnie do widm ECD protonowanych dendrymerów. Nie zaobserwowano fragmentów powstałych na skutek wychwytu elektronu przez dwuwartościowe kationy cynku i żelaza. Obecność na widmie masowym jonów kompleksów zawierających Ag^+ sygnału odpowiadającego $[\text{PD}+4\text{H}]^{4+}$ świadczy o tym, że musiał zajść proces wychwytu elektronu przez jednowartościowy kation srebra, jednak nie stwierdzono żadnych fragmentów dendrymeru, zawierających $\text{Ag}(0)$.

Na podstawie analizy wyników badania kompleksów utworzonych przez jony metali Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} z cząsteczkami dendrymeru PAMAM drugiej generacji można wysnuć wniosek, że procesy dysocjacji ECD zależą w bardzo dużym stopniu od właściwości kationów. Wpływ właściwości jonów metali na zachodzące procesy fragmentacji ECD odnotowano również w przypadku peptydów [161] i kompleksów tłuszczów [162, 163]. O'Hair ze współpracownikami zaobserwowali badając procesy ECD kompleksów dwuwartościowych metali z cząsteczkami tłuszczów, że metale charakteryzujące się większą wartością drugiej energii jonizacji tworzyły stabilne kompleksy o zredukowanym ładunku, powstające w wyniku zmiany stopnia utlenienia kationu, natomiast w przypadku metali charakteryzujących się małą wartością drugiej energii jonizacji odnotowano wychwyt elektronu przez ligand [164]. Podobne zjawisko można zaobserwować w przypadku opisywanych kompleksów jon metalu/dendrymer; dla jonów Fe^{3+} i Cu^{2+} charakteryzujących się dużą wartością drugiej energii jonizacji zaobserwowano proces wychwytu elektronu przez kationy, dla jonów metali o niskiej wartości drugiej energii jonizacji Zn^{2+} i Fe^{2+} nie stwierdzono zjawiska wychwytu elektronu przez kationy. Dla kompleksów z Ag^+ (kation Ag^+ ma inną liczbę powłok elektronowych niż pozostałe kationy) zachodzi proces wychwytu elektronu przez kation, o czym świadczy obecność jonów potomnych $[\text{PD}+\text{nH}]^{n+}$, jednak fragmentów dendrymeru, zawierających atom srebra $\text{Ag}(0)$ nie zanotowano.

Wyniki eksperymentów EPR przeprowadzonych przez Tomalię wraz ze współpracownikami [165] wykazują, że w kompleksach utworzonych przez Cu^{2+} z dendrymerami PAMAM jon metalu może być przyłączany za pomocą wiązań koordynacyjnych w różnych miejscach, tzn. w wewnętrznych lub zewnętrznych generacjach cząsteczki ligandu. W przypadku gdy ligandem jest dendrymer PAMAM z amidoetanolowymi grupami powierzchniowymi, koordynacja jonów metalu zachodzi przy udziale trzeciorzędowych grup aminowych, zlokalizowanych w wewnętrznych generacjach [166]. Nolan [167] ze współpracownikami wykazali, że w kompleksach $[\text{PD}+\text{Cu}^{2+}+4\text{H}]^{6+}$ jon metalu jest przyłączany do ligandu za pomocą dwóch trzeciorzędowych grup aminowych rdzenia oraz trzech amidowych atomów tlenu, w kompleksach $[\text{PD}+\text{Cu}^{2+}+2\text{H}]^{4+}$ koordynacja metalu zachodzi przy udziale dwóch trzeciorzędowych grup aminowych rdzenia, jednego amidowego atomu tlenu oraz dwóch amidowych atomów azotu. Na podstawie wyników doświadczeń ECD przedstawionych w tym opracowaniu można wnioskować, że jony Fe^{3+} i Cu^{2+} są przyłączane do ligandu przy udziale atomów azotu i/lub tlenu pochodzących z grup amidowych, zlokalizowanych w wewnętrznych generacjach; świadczy o tym obecność fragmentów powstałych na skutek rozerwania wiązań a/x (rys. 8a i b). Ponadto fakt, że na widmach ECD kompleksów zawierających kationy Cu^{2+} , Fe^{3+} nie zaobserwowano fragmentów zawierających rdzeń dendrymeru, ale niezawierających jonu metalu jest potwierdzeniem, że rdzeń ligandu pełni zasadniczą rolę w procesie koordynacji tych metali.

Dla kompleksów zawierających jony Ag^+ , Fe^{2+} , Zn^{2+} na podstawie uzyskanych widm ECD nie można jednoznacznie potwierdzić udziału rdzenia ligandu w procesie koordynacji kationów metali.

Widma masowe CID kompleksów $[\text{PD}+\text{Cu}^{2+}+3\text{H}]^{5+}$ i $[\text{PD}+\text{Fe}^{3+}+2\text{H}]^{5+}$ przedstawiono na rysunku 10, dane dotyczące jonów potomnych powstających w tych procesach zawarto w tabeli 7.



Źródło: [Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2009, 20, 674-681 DOI: 10.1016/j.jasms.2008.12.013, Kaczorowska, M.A., Cooper, H.J., "Electron Capture Dissociation and Collision-Induced Dissociation of Metal Ion (Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , and Fe^{3+}) Complexes of Polyamidoamine (PAMAM) Dendrimers", Figure 3].

Rys. 10. Widmo masowe CID ESI FT-ICR jonów macierzystych: (a) $[\text{PD}+\text{Cu}^{2+}+3\text{H}]^{5+}$, (b) $[\text{PD}+\text{Fe}^{3+}+2\text{H}]^{5+}$ [110]

Tabela 7. Jony potomne utworzone w wyniku procesu CID jonów $[PD+Cu^{2+}+3H]^{5+}$ oraz $[PD+Fe^{3+}+2H]^{5+}$, PD = PAMAMG2OH [110]

m/z doświadczalne	m/z teoretyczne	Jon
1248,1602	248,1610	$G_1(out)^+$
$^{1260,1601}, ^{1260,1599}$	260,1605	$[G_1(x)G_2(y)]^+$
$^{1345,2126}, ^{1345,2123}$	345,2138	$G_1(K_{out})^+$
1459,2913	459,2926	$[G_0(out)G_1(out)]^+$
1511,3210	511,3127	$[1/2PD-G_2(Lout)+3H]^{3+}$
1525,3244	525,3264	$[1/2PD-G_2(y)+3H]^{3+}$
$^{1545,6750}, ^{1545,6771}$	545,6771	$[1/2PD+3H]^{3+}$
1560,3123	560,3177	$[1/2PD+Cu^{2+}+H-H_2O]^{3+}$
1563,6474	563,6506	$[1/2PD+Fe^{3+}]^{3+}$
1566,3155	566,3214	$[1/2PD+Cu^{2+}+H]^{3+}$
1624,5691	624,5727	$[PD+Fe^{3+}-2G_2(Lout)+2H]^{5+}$
1633,1186	633,1244	$[PD+Cu^{2+}-G_0(Kout)+2H]^{4+}$
1644,9820	644,9841	$[PD+Fe^{3+}-G_2(Lout)+2H]^{3+}$
1646,5818	646,5863	$[PD+Cu^{2+}-G_2(Lout)+3H]^{5+}$
$^{1706,4428}, ^{1706,4415}$	706,4458	$G_0(out)^+$
$^{1718,4427}, ^{1718,4415}$	718,4458	$[G_0(x)G_2(y)]^+$
1747,6888	747,6953	$[PD+Cu^{2+}-G_1(K_{out})+2H]^{4+}$
$^{1803,4947}, ^{1803,4933}$	803,4985	$G_0(K_{out})^+$
$^{1818,0078}, ^{1818,0087}$	818,0087	$[1/2PD+2H]^{2+}$
1844,9644	844,9720	$[1/2PD+Fe^{3+}-H]^{2+}$
1849,4753	849,4821	$[1/2PD+Cu^{2+}]^{2+}$
$^{1905,5734}, ^{1905,5711}$	905,5784	$[1/2PD-G_0(z)+H]^+$
$^{11363,8495}, ^{11363,8446}$	1363,8636	$[1/2PD-G_1(z)+H]^+$

[Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2009, 20, 674-681 DOI: 10.1016/j.jasms.2008.12.013, Kaczorowska, M.A., Cooper, H.J., "Electron Capture Dissociation and Collision-Induced Dissociation of Metal Ion (Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , and Fe^{3+}) Complexes of Polyamidoamine (PAMAM) Dendrimers", supplementary section].

Widma CID MS/MS są zdominowane przez piki odpowiadające fragmentom potomnym powstałym w wyniku rozerwania wiązania pomiędzy dwoma atomami węgla zlokalizowanymi w rdzeniu cząsteczki dendrymeru: $[1/2PD+Cu^{2+}]^{2+}$, $[1/2PD+Cu^{2+}+H]^{3+}$, $[1/2PD+2H]^{2+}$, $[1/2PD+3H]^{3+}$ dla $[PD+Cu^{2+}+3H]^{5+}$ oraz $[1/2PD+Fe^{3+}-H]^{2+}$, $[1/2PD+Fe^{3+}]^{3+}$, $[1/2PD+3H]^{3+}$, $[1/2PD+2H]^{2+}$ dla $[PD+Fe^{3+}+2H]^{5+}$. Inne fragmenty, których powstanie było związane z rozerwaniem wiązań w rdzeniu cząsteczki czynnika chelatującego są również obecne na widmie masowym (np. $[1/2PD-G_0(z)+H]^+$).

Mechanizm dysocjacji CID kompleksów jon metalu/dendrymer jest nietypowy w porównaniu z obserwowanym dla protonowanych dendrymerów (fragmenty K i L) i wynika z koordynacji jonów Cu^{2+} i Fe^{3+} do ligandu. Intensywność pików odpowiadających jonom potomnym powstałym w wyniku rozerwania wiązania C-C rdzenia dendrymeru wskazuje na to, że obie trzeciorzędowe grupy aminowe rdzenia biorą udział w koordynacji jonów metali. Osłabienie

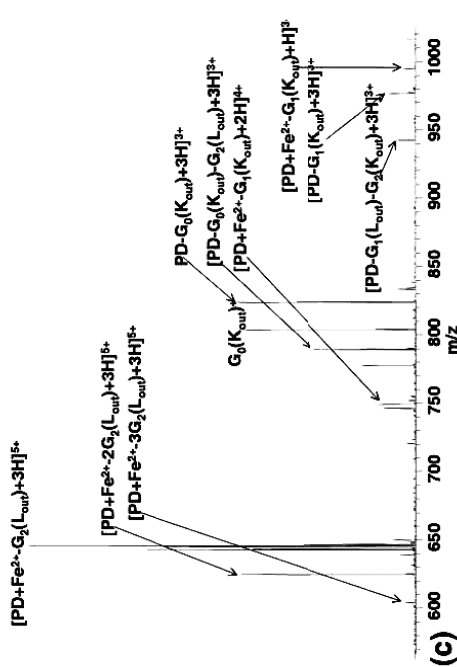
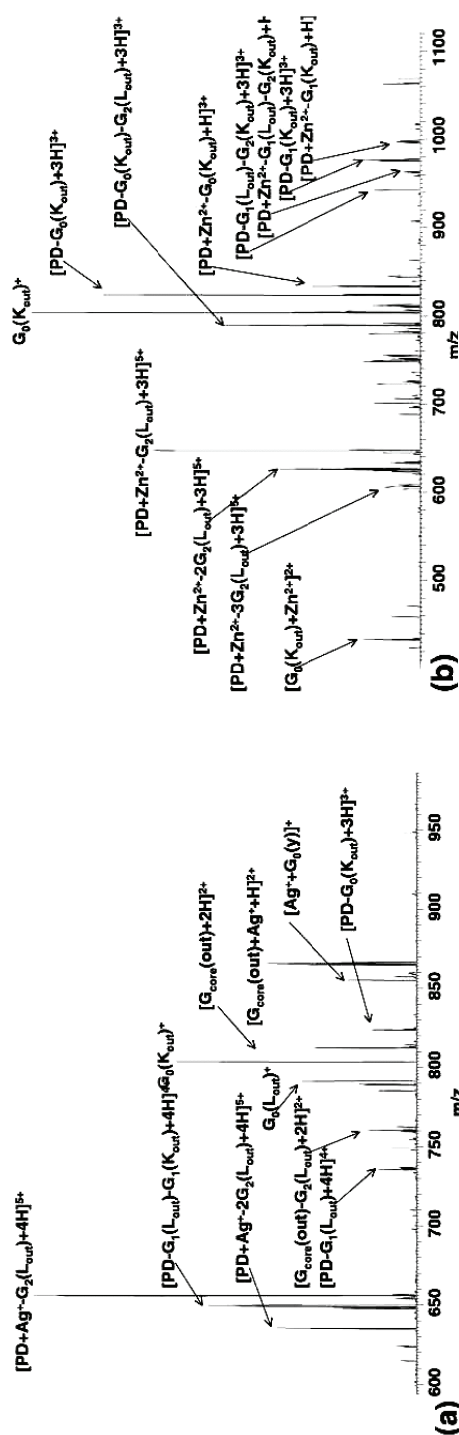
wiązania pomiędzy atomami węgla rdzenia na skutek koordynacji jonu metalu jest przyczyną rozerwania tego wiązania w procesie CID

Widma masowe CID kompleksów $[PD+Ag^++4H]^+$, $[PD+Zn^{2+}+3H]^+$, $[PD+Fe^{2+}+3H]^+$ przedstawiono na rysunku 11, tabela 8 zawiera listę obserwowanych jonów potomnych.

Tabela 8. Jony potomne utworzone w wyniku procesu CID jonów $^h[PD+Ag^++4H]^+$, $^i[PD+Zn^{2+}+3H]^+$, $^j[PD+Fe^{2+}+3H]^+$, PD = PAMAMG2OH [110]

m/z doświadczalne	m/z teoretyczne	Jon
i248,1601	248,1610	$G_1(out)^+$
h345,2119 , i345,2125 , j345,2124	345,2138	$G_1(K_{out})^+$
i433,2084	433,2101	$[G_0(K_{out})+Zn^{2+}]^{2+}$
i459,2912	459,2926	$[G_0(out)G_1(out)]^+$
j603,9568	603,9601	$[PD+Fe^{2+}-3G_2(L_{out})+3H]^+$
j624,5692	624,5727	$[PD+Fe^{2+}-2G_2(L_{out})+3H]^+$
i626,1688	626,1716	$[PD+Zn^{2+}-2G_2(L_{out})+3H]^+$
h634,9631	634,9656	$[PD+Ag^+-2G_2(L_{out})+4H]^+$
j645,1818	645,1854	$[PD+Fe^{2+}-G_2(L_{out})+3H]^+$
i646,7814	646,7842	$[PD+Zn^{2+}-G_2(L_{out})+3H]^+$
h649,4088	649,4127	$[PD-G_1(L_{out})-G_1(K_{out})+4H]^+$
h655,5758	655,5809	$[PD+Ag^+-G_2(L_{out})+4H]^+$
i696,4081	696,4112	$[PD+Zn^{2+}-G_1(K_{out})2G_2(L_{out})+2H]^+$
i722,1731	722,1770	$[PD+Zn^{2+}-G_1(K_{out})-G_2(L_{out})+2H]^+$
h735,4570 , j735,4588	735,4642	$[PD-G_1(L_{out})+4H]^+$
j745,9398	745,9443	$[PD+Fe^{2+}-G_1(K_{out})+2H]^+$
h749,4817	749,4880	$G_0(y)^+$
h760,4728	760,4801	$[G_{core}(out)-G_2(L_{out})+2H]^{2+}$
j777,4586	777,4641	$[PD+Fe^{2+}-G_2(K_{out})-G_2(L_{out})+2H]^+$
i789,1632 , j789,1620	789,1626	$[PD-G_0(K_{out})-G_2(L_{out})+3H]^{3+}$
h791,4914 , i791,4946 , j791,4927	791,4985	$G_0(L_{out})^+$
h803,4914 , i803,4947 , j803,4930	803,4985	$G_0(K_{out})^+$
h812,0048 , i812,0079 , j812,0057	812,0082	$[G_{core}(out)+2H]^{2+}$
h823,5137 , i823,5175 , j823,5158	823,5170	$[PD-G_0(K_{out})+3H]^{3+}$
i844,1550	844,1596	$[PD+Zn^{2+}-G_0(K_{out})+H]^{3+}$
h855,3770	855,3858	$[Ag^++G_0(y)]^+$
h864,9525	864,9607	$[G_{core}(out)+Ag^++H]^{2+}$
i941,9234 , j941,9198	941,9287	$[PD-G_1(L_{out})-G_2(K_{out})+3H]^{3+}$
i962,5613	962,5669	$[PD+Zn^{2+}-G_1(L_{out})-G_2(K_{out})+H]^{3+}$
i976,2771 , j976,2743	976,2832	$[PD-G_1(K_{out})+3H]^{3+}$
j994,2496	994,2562	$[PD+Fe^{2+}-G_1(K_{out})+H]^{4+}$
i996,9149	996,9213	$[PD+Zn^{2+}-G_1(K_{out})+H]^{3+}$
i1062,6676	1062,6755	$[PD-G_0(K_{out})-G_1(K_{out})+2H]^{2+}$
i1068,6675	1068,6755	$[PD-G_0(K_{out})-G_1(L_{out})+2H]^{2+}$

[Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2009, 20, 674-681 DOI: 10.1016/j.jasms.2008.12.013, Kaczorowska, M.A., Cooper, H.J., "Electron Capture Dissociation and Collision-Induced Dissociation of Metal Ion (Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , and Fe^{3+}) Complexes of Polyamidoamine (PAMAM) Dendrimers", supplementary section].



Źródło:

[Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2009, 20, 674-681 DOI: 10.1016/j.jasms.2008.12.013, Kaczorowska, M.A., Cooper, H.J., "Electron Capture Dissociation and Collision-Induced Dissociation of Metal Ion (Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , and Fe^{3+}) Complexes of Polyamidoamine (PAMAM) Dendrimers", Figure 4].

Rys. 11. Widmo masowe CID ESI FT-ICR jonów mace-
rzystych: (a) $[\text{PD}+\text{Ag}^++4\text{H}]^{5+}$ (b) $[\text{PD}+\text{Zn}^{2+}+3\text{H}]^{5+}$
(c) $[\text{PD}+\text{Fe}^{2+}+3\text{H}]^{5+}$ [110]

We wszystkich przypadkach najbardziej intensywne sygnały odpowiadają jonom potomnym powstałym w wyniku rozerwania wiązań typu K i L (rys. 2), podobnie jak w przypadku protonowanych dendrymerów. Obecność fragmentów w skład których wchodzi jon Ag^+ ($[\text{G}_{\text{core}}(\text{out})+\text{Ag}^++\text{H}]^{2+}$, $[\text{Ag}^++\text{G}_0(\text{y})]^+$ (rys. 11a) oraz brak fragmentów ligandu z generacji G_2 i G_1 zawierających kation srebra świadczą o tym, że koordynacja Ag^+ ma miejsce w pobliżu rdzenia ligandu. W przypadku kompleksów Zn^{2+} /dendrymer liczne fragmenty pochodzące z generacji G_0 i G_1 ligandu zawierające oraz niezawierające jonów metalu, brak jonów potomnych składających się jednocześnie z rdzenia i jonu metalu oraz brak fragmentów z generacji zewnętrznej G_2 zbudowanych z jonu metalu świadczą o tym, że koordynacja Zn^{2+} zachodzi w wewnętrznych generacjach czynnika chelatującego, ale najprawdopodobniej rdzeń ligandu nie bierze w tym procesie bezpośredniego udziału. Podobne wnioski można wysnuć na podstawie analizy widma CID kompleksów zawierających kation Fe^{2+} (rys. 11c). Koordynacja dwuwartościowego kationu żelaza ma miejsce w wewnętrznych generacjach ligandu G_1 , rdzeń cząsteczki dendrymeru nie bierze udziału w tworzeniu wiązań koordynacyjnych.

Metody ECD i CID tandemowej spektrometrii mas, zastosowane do badania struktury jonów kompleksów utworzonych przez dendrymer PAMAM trzeciej generacji z jonami metali Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , dostarczają uzupełniających się wzajemnie informacji na temat sposobu i miejsca koordynacji kationu metalu w cząsteczce ligandu oraz na temat budowy ligandu. W przypadku kompleksów zawierających dwuwartościowy kation miedzi oraz trójwartościowy kation żelaza metoda ECD jest źródłem informacji dotyczących sposobu koordynacji – wychwyt elektronu przez kationy metali skutkuje powstaniem jonów potomnych w wyniku rozerwania wiązań typu a/x, sugerując, że koordynacja kationów następuje z udziałem amidowych atomów azotu i/lub tlenu. Wyniki eksperymentów CID przeprowadzonych dla tych kompleksów prowadzą do wniosku, że obie trzeciorzędowe grupy aminowe rdzenia ligandu biorą udział w procesie koordynacji Cu^{2+} i Fe^{3+} . Wyniki doświadczeń ECD, przeprowadzonych dla kompleksów z Ag^+ sugerują, że kation srebra ulega przyłączeniu do cząsteczki dendrymeru w wewnętrznych generacjach, najprawdopodobniej w pobliżu rdzenia.

Rezultaty uzyskane przy użyciu techniki CID wykazują, że tylko jedna trzeciorzędowa grupa aminowa rdzenia bierze udział w koordynacji kationu srebra, w procesie CID nie dochodzi do rozerwania wiązania C-C rdzenia etylenodiaminowego. W przypadku kompleksów dendrymeru PAMAM drugiej generacji z jonami metali Fe^{2+} i Zn^{2+} wyniki uzyskane za pomocą obu metod tandemowej spektrometrii mas ECD i CID świadczą o tym, że koordynacja kationów tych metali do cząsteczki ligandu ma miejsce w wewnętrznych generacjach (G_0 , G_1), ale bez bezpośredniego udziału rdzenia dendrymeru.

6. CHARAKTERYSTYKA POLIFOSFOESTRÓW PRZY WYKORZYSTANIU METOD CID I ECD TANDEMOWEJ SPEKTROMETRII MAS

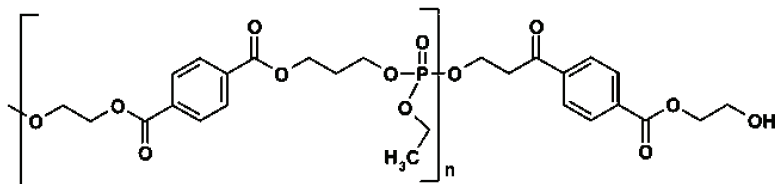
Polifosfoestry (*polyphosphoesters*, PPEs) zawierające powtarzające się wiązania fosfoestrowe w łańcuchu polimeru wzbudzają duże zainteresowanie naukowców ze względu na możliwości wykorzystania ich w różnych procesach biologicznych oraz w przemyśle farmaceutycznym [168-170]. Stosuje się je między innymi jako nośniki leków i genów [171-178] oraz w inżynierii tkanek [179-184]. PPEs charakteryzują się dużą różnorodnością, obecność pięciowartościowych atomów fosforu w łańcuchu polimeru umożliwia przeprowadzenie modyfikacji (np. dodatkowych grup funkcyjnych), a w konsekwencji zmiany właściwości fizykochemicznych związku oraz wprowadzenie bioaktywnych cząsteczek [175, 185, 186]. Nawet niewielkie zmiany struktury polifosfoestru mogą znacząco wpłynąć na oddziaływanie tego związku na systemy biologiczne [174].

Jedną z charakterystycznych cech tych związków jest biodegradowalność. Polifosfoestry ulegają biodegradacji w wyniku hydrolizy oraz poprzez rozkład enzymatyczny – niektóre wiązania tworzone przez atomy fosforu ulegają rozrywaniu w warunkach fizjologicznych [168, 187]. PPEs mogą być stosowane jako nośniki leków lub genów tylko wówczas, gdy właściwości wszystkich produktów ich degradacji, takie jak np. cytotoksyczność, są dobrze znane. Warunkiem możliwości stosowania polimerów w medycynie jest odpowiedni do konkretnej aplikacji stopień degradacji związków oraz nietoksyczność ich produktów degradacji [188].

Możliwości zastosowania tych związków w różnego rodzaju dziedzinach zależą od ich właściwości, dlatego istnieje ogromna potrzeba opracowania prostej metody pozwalającej na zbadanie budowy cząsteczek polifosfoestrów, stopnia ich czystości oraz produktów degradacji. Metody spektrometrii mas mogą być z powodzeniem wykorzystywane do badania polimerów [189-195]. Można je stosować do określania masy cząsteczkowej oraz składu pierwiastkowego tych związków [196-201]. Dotychczas bardzo rzadko do badania budowy polimerów używano metod spektrometrii mas opartych na zastosowaniu spektrometru FT-ICR. Simonsick i Petkovska wykorzystali spektrometr masowy z transformacją Fouriera do badania struktury poliestrów i akrylanów [202], Cerda ze współpracownikami badali procesy sekwencjonowania oligomerów za pomocą ECD FT-ICR [75] oraz procesy fragmentacji polimerów PEG przy użyciu metod tandemowej spektrometrii mas CID i ECD [77].

Mimo iż metody spektrometrii mas są intensywnie wykorzystywane do badania budowy i właściwości wielu różnych polimerów, dotychczas polifosfoestry badano głównie z zastosowaniem spektroskopii NMR, metod GPC oraz chromatografii cieczowej i kolorymetrii [203-206]. W opracowaniu omówiono wyniki badań budowy oraz degradacji polifosfoestru

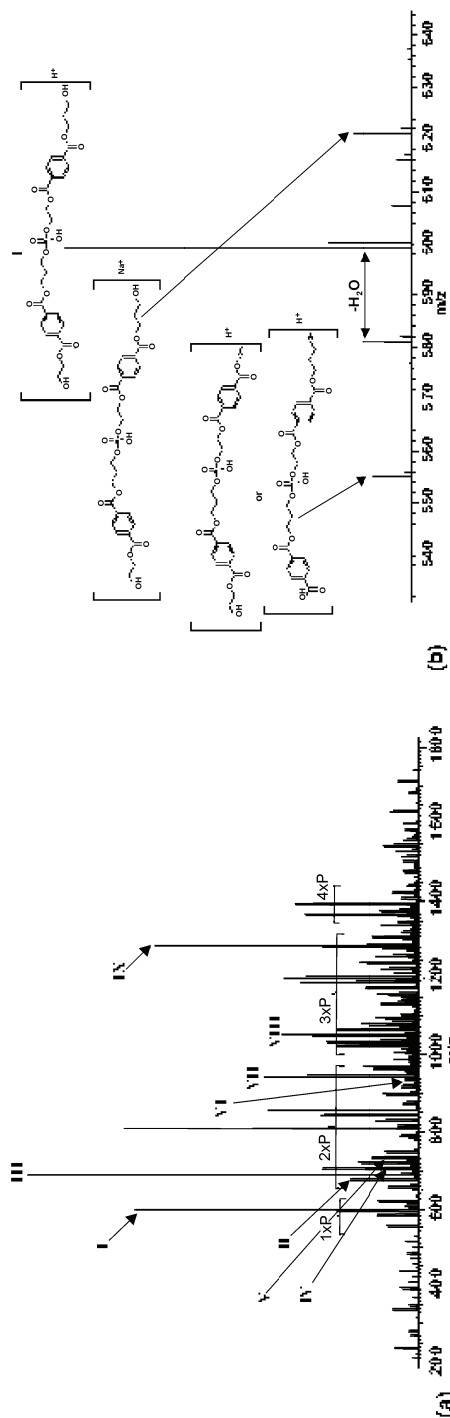
Poli(1,4bis(hydroksyetylo)tereftalato)-*alt*-etyloksyfosforanu przedstawionego na rysunku 12, oznaczonego w skrócie „PPe”, posługując się spektrometrem masowym FT-ICR oraz stosując metody CID i ECD tandemowej spektrometrii mas. Wyniki te opublikowano [111].



Źródło: [Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2009, 20, 2238-2247 DOI: 10.1016/j.jasms.2009.08.012, Kaczorowska, M., Cooper, H.J., “Characterization of Polyphosphoesters by Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry.” Scheme 1].

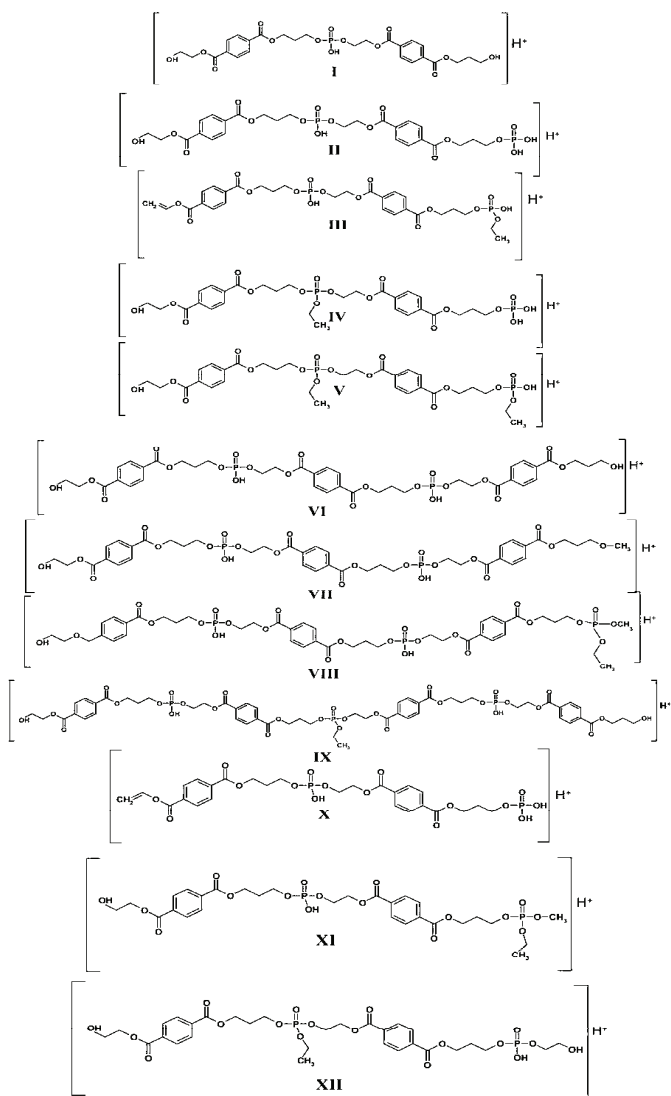
Rys. 12. Struktura Poli(1,4bis(hydroksyetylo)tereftalato)-*alt*-etyloksyfosforanu, „PPe”[111]

Badany polifosfoester jest związkiem nierozpuszczalnym w wodzie, ulegającym biodegradacji. Elektrorozpylanie PPe rozpuszczonego w mieszaninie chloroformu i metanolu z niewielkim dodatkiem kwasu octowego skutkuje powstaniem kationów obdarzonych jednowartościowym ładunkiem dodatnim. Proces ten obrazuje spektrum masowe przedstawione na rysunku 13a. Rysunek 14 przedstawia budowę jonów jednododatnich PPe (produktów degradacji), odpowiadających najbardziej intensywnym pikom na widmie masowym polifosfoestu. Przypisanie pikom widocznym na spektrum odpowiednich produktów degradacji wykonano na podstawie dokładnych pomiarów masy oraz wyników przeprowadzonych eksperymentów CID tandemowej spektrometrii mas. Ponadto dane te weryfikowano przez porównywanie obserwowanego i teoretycznego rozkładu izotopowego dla poszczególnych jonów. Najbardziej intensywne sygnały odpowiadają jonom: I ($m/z_{\text{dośw}}$ 599,1544, m/z_{teor} 599,1530), II ($m/z_{\text{dośw}}$ 679,1213, m/z_{teor} 679,1193), III ($m/z_{\text{dośw}}$ 689,1419, m/z_{teor} 689,1400), IV ($m/z_{\text{dośw}}$ 707,1529, m/z_{teor} 707,1506), V ($m/z_{\text{dośw}}$ 735,1843, m/z_{teor} 735,1819), VI ($m/z_{\text{dośw}}$ 929,2077, m/z_{teor} 929,2034), VII ($m/z_{\text{dośw}}$ 943,2231, m/z_{teor} 943,2191), IX ($m/z_{\text{dośw}}$ 1287,2908, m/z_{teor} 1287,2852). Widmo masowe polimeru „PPe” można podzielić na cztery części biorąc pod uwagę liczbę grup fosforowych, występujących w produktach degradacji związku. W regionie oznaczonym na widmie masowym (rys. 13a) 1 x P (m/z od 550 do 650) wykryto jony zawierające tylko jeden atom fosforu, w regionie 2 x P (m/z od 650 do 1000) – jony zawierające dwa atomy fosforu, w 3 x P (m/z od 1000 do 1350) – jony z trzema atomami fosforu a w regionie oznaczonym 4 x P (m/z powyżej 1350) – jony zawierające cztery atomy fosforu.



Źródło: [Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2009, 20, 2238-2247 DOI: 10.1016/j.jasms.2009.08.012, Kaczorowska, M., Cooper, H.J., "Characterization of Polyphosphates by Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry." Figure 1] (a).

Rys. 13. Widmo masowe ESI FT-ICR polifosforu „P_nPe”, rozpuszczonego w mieszaninie chloroformu/metanolu/kwas octowy (b) powiększony region spektrum masowego od m/z 550 do 650, (c) powiększony region spektrum masowego od m/z 650 do 770 [111]



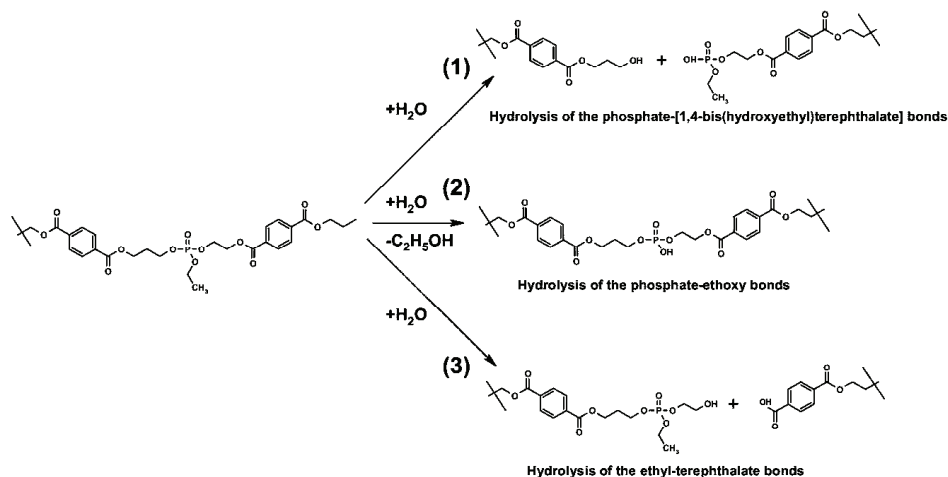
Źródło: [Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2009, 20, 2238-2247 DOI: 10.1016/j.jasms.2009.08.012, Kaczorowska, M., Cooper, H.J., "Characterization of Polyphosphoesters by Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry." Figure 2].

Rys. 14. Wzory strukturalne jednowartościowych kationów, będących produktami degradacji polimeru „PPE” [111]

Na rysunku 13b zaprezentowano powiększony region widma masowego $1 \times P$. Najbardziej intensywny sygnał w tym regionie odpowiada jednododatniemu jonowi, oznaczonemu symbolem I, zawierającemu grupę fosforanową. Kolejny pik w regionie $1 \times P$ obserwowany dla m/z 581,1436 (m/z_{teor} 581,1424) odpowiada fragmentowi powstałemu w wyniku oderwania cząsteczki wody od

jonu I. Sygnał widoczny dla m/z 555,1281 (m/z_{teor} 555,1268) może być przyporządkowany dwom różnym produktom degradacji (rys. 13b), jednak przeprowadzone eksperymenty CID nie pozwoliły na jednoznaczne stwierdzenie, który z możliwych jonów powstaje. Pik obserwowany dla m/z 621,1365 (m/z_{teor} 621,1365) odpowiada jonowi zawierającemu Na^+ . Rysunek 13c przedstawia powiększony region widma masowego od m/z 650 do m/z 770.

Na podstawie analizy widma masowego można stwierdzić, że polimer „PPe” ulega trzem różnym procesom degradacji, przedstawionym na rysunku 15.



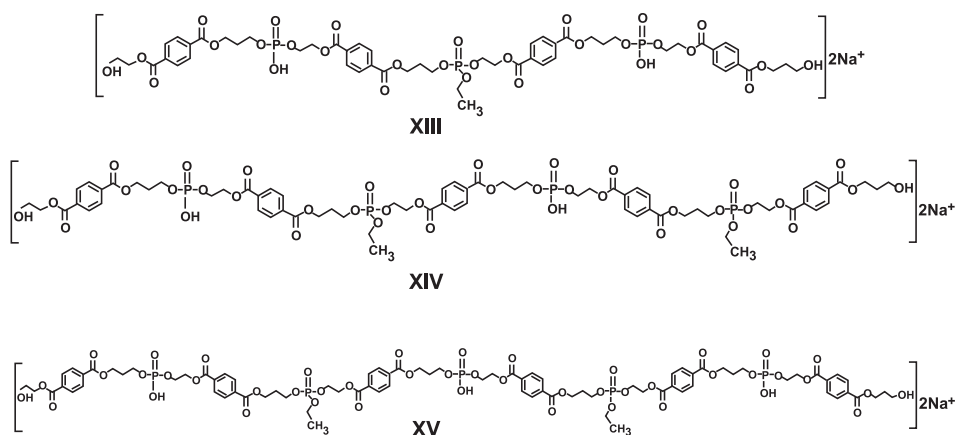
Źródło: [Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2009, 20, 2238-2247 DOI: 10.1016/j.jasms.2009.08.012, Kaczorowska, M., Cooper, H.J., “Characterization of Polyphosphoesters by Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry.” Scheme 3].

Rys. 15. Obserwowane procesy degradacji polimeru „PPe” [111]

Wiele z obserwowanych produktów degradacji powstaje w wyniku dwóch procesów hydrolizy; taka sytuacja dotyczy między innymi fragmentu I (rys. 14), który tworzy się w wyniku procesu hydrolizy, oznaczonego (1) na schemacie 15 oraz procesu (2). Wyniki otrzymane za pomocą metody ESI FT-ICR są zgodne z danymi uzyskanymi wcześniej przez Zhao i współpracowników [202], którzy do badania degradacji polifosfoestrów zastosowali między innymi ^1H i ^{31}P NMR oraz różne rodzaje metod chromatograficznych i kolorymetrycznych. Stwierdzili oni, że polifosfoestry ulegają dwustopniowej degradacji; w pierwszym, szybkim etapie hydrolizie ulegają wiązania między grupą fosforanową a laktydową oraz w niewielkim stopniu między grupą fosforanową a etoksyłową ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), w drugim, wolniejszym etapie następuje degradacja PDLA (Poli(D,L-laktyd).

Wyniki przedstawione w opracowaniu potwierdzają, że spektrometria mas może być z powodzeniem wykorzystywana do badania procesów degradacji, jakim ulegają polifosfoestry. Zasadniczą zaletą tej metody jest łatwość wykonania doświadczenia, którego efektem jest spektrum masowe. Wykorzystanie spektrometru typu FT-ICR pozwala w większości przypadków na jednoznaczne przypo-

rządkowanie pikom widocznym na widmie odpowiednich produktów degradacji; wynika to przede wszystkim z bardzo dokładnego pomiaru masy (do czwartego miejsca po przecinku). Analiza uzyskanych widm masowych przy użyciu ogólnodostępnych „kalkulatorów masy” cząsteczek jest stosunkowo prostym i szybkim procesem. Metody spektrometrii mas oraz tandemowej spektrometrii mas takie jak CID i ECD mogą być również wykorzystywane do badania budowy jonów polifosfoestrów. Metodą fragmentacji CID można posłużyć się zarówno do badania dysocjacji kationów jednowartościowych (zrobiono to podczas analizy produktów degradacji), jak i jonów obdarzonych ładunkiem wielokrotnym. Ze względu na charakter, metoda ECD może być stosowana tylko i wyłącznie do badania procesów fragmentacji jonów o ładunku większym od jedności. Elektro-rozpylanie PPe rozpuszczonego w mieszaninie metanolu, chloroformu i kwasu octowego prowadzi do powstania kationów jednododatnich, dlatego do roztworu dodano jeszcze jodek sodowy rozpuszczony w wodzie, co spowodowało powstanie między innymi jonów (produktów degradacji) obdarzonych ładunkiem dwudodatnim (skutkiem przyłączenia dwóch jonów sodowych). Struktury jonów dwudodatnich powstałych w wyniku dodania NaI do roztworu $\text{CH}_4/\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{COOH}/\text{H}_2\text{O}$ zawierającego „PPe” przedstawiono na rysunku 16.

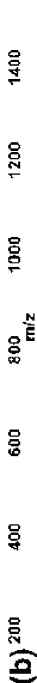
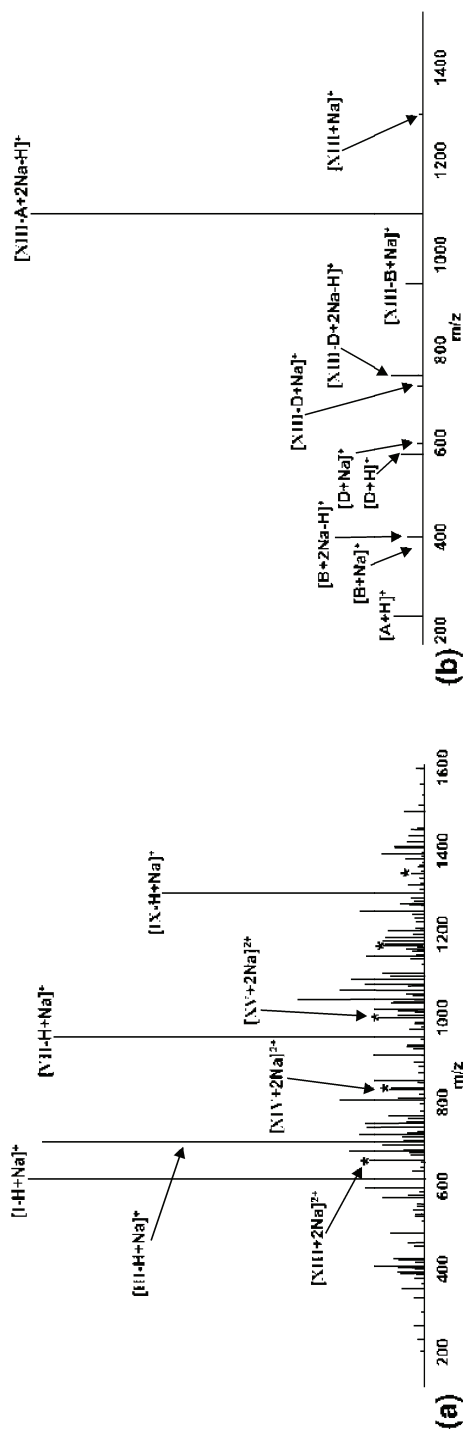


Źródło: [Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2009, 20, 2238-2247 DOI: 10.1016/j.jasms.2009.08.012, Kaczorowska, M., Cooper, H.J., "Characterization of Polyphosphoesters by Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry." Scheme 4].

Rys. 16. Struktury dwuwartościowych kationów, produktów degradacji „PPe”, powstałych w roztworze $\text{CH}_4/\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{COOH}/\text{NaI}/\text{H}_2\text{O}$ [111]

Widmo masowe uzyskane w wyniku elektro-rozpylenia PPe w roztworze $\text{CH}_4/\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{COOH}/\text{NaI}/\text{H}_2\text{O}$ zostało przedstawione na rysunku 17 a.

Widma CID i ECD wyizolowanych kationów dwudodatnich $[\text{XIII}+2\text{Na}]^{2+}$ przedstawione są odpowiednio na rysunkach 17b oraz 17c. W tabelach 9 i 10 przedstawiono jony potomne utworzone w wyniku fragmentacji CID i ECD jonów $[\text{XIII}+2\text{Na}]^{2+}$.



Źródło:

[Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2009, 20, 2238-2247 DOI: 10.1016/j.jasms.2009.08.012, Kaczorowska, M., Cooper, H.J., "Characterization of Polyphosphoesters by Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry." Figure 3].

Rys. 17. (a) Widmo masowe ESI FT-ICR polimeru „PPE: w roztworze $\text{CH}_2/\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{COOH}/\text{Na}/\text{H}_2\text{O}$ – gwiazdkami oznaczono piki odpowiadające jonom dwudodatnim, zawierającym dwa jony Na^+ , (b) Widmo masowe CID jonów $[\text{XIII}+2\text{Na}]^{2+}$, (c) Widmo masowe ECD jonów $[\text{XIII}+2\text{Na}]^{2+}$ [111]

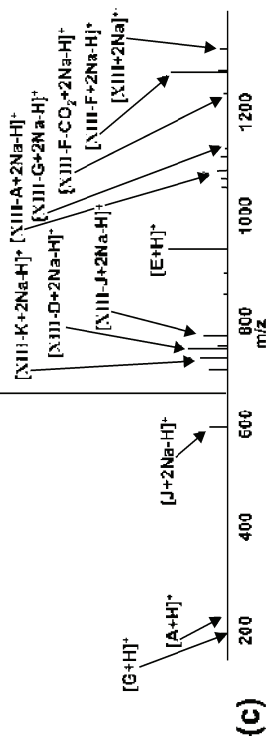


Tabela 9. Jony potomne utworzone w wyniku procesu CID jonów $[XIII+2Na]^{2+}$ [111]

m/z doświadczalne	m/z teoretyczne	Jon
237,0756	237,0763	$[A + H]^+$
385,0656	385,0665	$[B + Na]^+$
407,0476	407,0485	$[B + 2Na-H]^+$
581,1412	581,1424	$[D + H]^+$
603,1232	603,1244	$[D + Na]^+$
729,1313	729,1321	$[XIII - D + Na]^+$
751,1129	751,1146	$[XIII - D + 2Na-H]^+$
947,1894	947,1905	$[XIII - B + Na]^+$
1095,1749	1095,1807	$[XIII - A + 2Na-H]^+$
1309,2622	1309,2672	$[XIII + Na]^+$

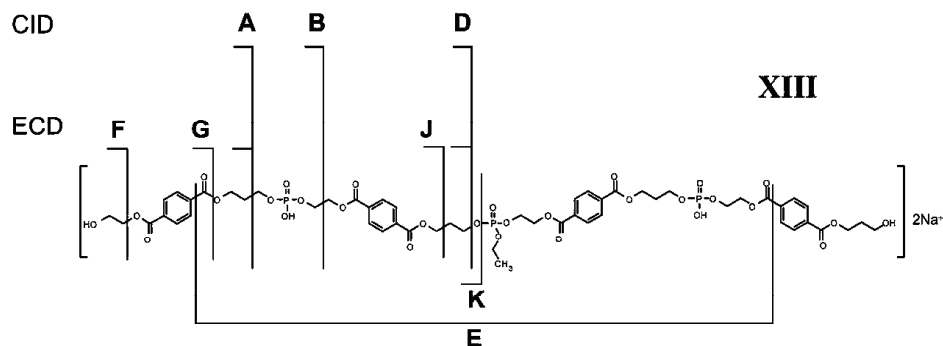
[Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2009, 20, 2238-2247 DOI: 10.1016/j.jasms.2009.08.012, Kaczorowska, M., Cooper, H.J., "Characterization of Polyphosphoesters by Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry." Table 1].

Tabela 10. Jony potomne utworzone w wyniku procesu ECD jonów $[XIII+2Na]^{2+}$ [111]

m/z doświadczalne	m/z teoretyczne	Jon
193,0494	193,0501	$[G + H]^+$
237,0757	237,0763	$[A + H]^+$
599,0902	599,0907	$[J + 2Na-H]^+$
666,1279	666,1285	$[XIII + 2Na]^{2+}$
735,1195	735,1197	$[XIII - K + 2Na-H]^+$
751,1141	751,1146	$[XIII - D + 2Na-H]^+$
778,1378	778,1375	$[XIII - J + 2Na-H]^+$
943,1569	943,1592	$[E + H]^+$
1095,1814	1095,1807	$[XIII - A + 2Na-H]^+$
1139,2103	1139,2069	$[XIII - G + 2Na-H]^+$
1243,2332	1243,2332	$[XIII - F-CO_2 + 2Na-H]^+$
1287,2242	1287,2230	$[XIII - F + 2Na-H]^+$
1332,2588	1332,2570	$[XIII + 2Na]^+$

[Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2009, 20, 2238-2247 DOI: 10.1016/j.jasms.2009.08.012, Kaczorowska, M., Cooper, H.J., "Characterization of Polyphosphoesters by Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry." Table 2].

Miejsca rozerwania wiązań cząsteczkowych jonów $[XIII+2Na]^{2+}$ w procesach dysocjacji CID i ECD przedstawiono na rysunku 18. Wyniki doświadczeń tandemowej spektrometrii mas sugerują, że grupa etyloksyfosforanowa w jonie $[XIII+2Na]^{2+}$ zlokalizowana jest w łańcuchu polimeru pomiędzy grupami fosforanowymi.



Źródło: [Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2009, 20, 2238-2247 DOI: 10.1016/j.jasms.2009.08.012, Kaczorowska, M., Cooper, H.J., "Characterization of Polyphosphoesters by Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry." Scheme 5].

Rys. 18. Miejsca rozerwania wiązań w kationie $[XIII+2Na]^{2+}$, w procesach CID i ECD [111]

Dysocjacja CID badanych kationów dwudodatnich zachodzi w wyniku rozerwania wiązań C-C zlokalizowanych w różnych miejscach w łańcuchu poli-fosfoestu. Widmo CID jest zdominowane przez pary odpowiadających sobie fragmentów potomnych, takich jak: $[XIII-B+Na]^+$ i $[B+Na]^+$, $[XIII-A+2Na-H]^+$ i $[A+H]^+$, $[XIII-D+Na]^+$ i $[D+Na]^+$. Procesy fragmentacji zaobserwowane podczas wychwytu elektronu przez analizowane jony są dużo bardziej skomplikowane, chociaż zanotowano również jony potomne powstałe w wyniku rozerwania wiązań C-C identycznych jak w procesie CID. Najbardziej intensywne piki na widmie ECD pochodzą od prekursora $[XIII+2Na]^{2+}$, jonu prekursora o ładunku zredukowanym na skutek wychwycenia elektronu oraz kationu $[E+H]^+$, będącego wynikiem rozerwania dwóch wiązań, tak jak to przedstawiono na rysunku 18. Jony potomne $[XIII-D+2Na-H]^+$ i $[XIII-F+2Na-H]^+$ powstały w wyniku rozerwania wiązań CH_2-O . Podobne mechanizmy fragmentacji ECD zaobserwowano dla cyklicznych peptydów [207]. Ponadto odnotowano piki odpowiadające jonom powstałym na skutek rozerwania wiązań $C(O)-O$ (G na rysunku 18), C-C innych niż w przypadku CID (J na rysunku 18) oraz wiązań P-O (K na rysunku 18). Rozerwanie wiązania pomiędzy atomem fosforu a atomem tlenu jest nietypowym zjawiskiem, niezaobserwowanym wcześniej w procesach ECD, jakim ulegają peptydy zawierające grupy fosforanowe [208, 209].

Podsumowując, można stwierdzić, że na podstawie analizy widma masowego polifosfoestu uzyskuje się dokładne informacje o procesach degradacji, jakim on ulega. Eksperymenty CID i ECD MS/MS są źródłem danych na temat budowy poszczególnych produktów degradacji, w konsekwencji dostarczają więc uzupełniających się wzajemnie, szczegółowych informacji na temat bu-

dowy polifosfoestru. Wyniki przedstawionych badań są potwierdzeniem tezy, że metody spektrometrii mas i tandemowej spektrometrii mas stają się bardzo dobrym narzędziem w charakterystyce polifosfoestrów wówczas, gdy właściwie dobierze się rodzaj spektrometru, na którym wykonuje się doświadczenia (czułość, rozdzielczość), oraz gdy zastosuje się odpowiednie, wzajemnie się uzupełniające metody fragmentacji (w tym przypadku kombinacji metod CID i ECD).

7. ANALIZA BUDOWY TRÓJJĄDROWYCH KOMPLEKSÓW METALI ZAWIERAJĄCYCH MOSTKI KARBOKSYLOWE ORAZ CENTRALNY ATOM TLENU, O WZORZE $[M_3O(O_2CR)_6L_3]^+$, PRZY UŻYCIU METOD CID I EID TANDEMOWEJ SPEKTROMETRII MAS

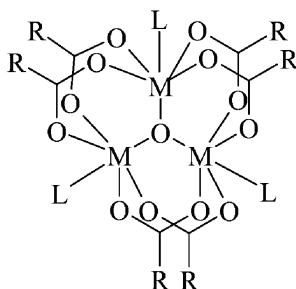
Kompleksy metali o wzorze ogólnym $[M_3O(O_2CR)_6L_3]^+$, gdzie R oznacza grupę alkilową, L – ligand zewnętrzny, którym mogą być np. cząsteczki wody, pirydyny, metanolu zbudowane z trzech jonów metalu połączonych centralnym atomem tlenu, w których dodatkowo każde dwie pary jonów metalu łączą mostki utworzone przez dwie cząsteczki karboksylanowe, (RCOO), są analizowane od wielu lat [210-215]. Stosuje się je jako stosunkowo proste modele służące do badania elektronowych i magnetycznych oddziaływań metal-metal w klastrach [216-220] oraz jako prekursory dla bardziej złożonych klastrów, takich jak dwunastojądrowe (Mn_{12}) [221], czy trzydziestodwujądrowe (Mn_{32}) [222] kompleksy, będące klasycznymi magnesami cząsteczkowym „SMMs” (*Single Molecule Magnets*) [223]. Właściwości SMMs są intensywnie badane ze względu na potencjalne możliwości zastosowania tych związków w takich dziedzinach, jak informatyka czy biomedycyna [224-229].

Spośród trójjądrowych kompleksów tworzonych przez jony metali przejściowych najbardziej intensywnie badano związki tworzone przez żelazo, chrom i mangan. Brown ze współpracownikami [230] studiowali magnetyczne i spektroskopowe właściwości mieszanych kompleksów $Fe^{II}Fe^{III}$, grupa Hendricksona [231, 232] analizowała procesy transferu elektronów w mieszanych kompleksach żelaza, Baranwal ze współpracownikami [233] opracowali metodę syntezy mieszanych kompleksów żelaza $Fe^{II}Fe^{III}$ typu $[M_3O(O_2CR)_6L_3]^+$, zawierających mieszane ligandy karboksylanowe i merkaptokarboksylanowe. Trójjądrowe kompleksy chromu^{III}, zawierające różnorodne ligandy badali między innymi Baranwal [211, 218, 234, 235], Harton [236], Figuerola [216], Vlachos [237]. Metody syntezy oraz właściwości magnetyczne różnych trójjądrowych kompleksów manganu, w których jony Mn połączone są centralnym atomem tlenu, były tematem prac badawczych An [238], Thorntona [239] i Decurtinsa [240], Taleba [241] i Viciano-Chumillas [242-245]. Opracowaniem metod syntezy kompleksów, zawierających różne metale, np. chrom i żelazo, żelazo i kobalt, zajmował się między innymi Yazdanbakhsh [246, 247].

Większość informacji na temat budowy i właściwości, np. magnetycznych, kompleksów typu $[M_3O(O_2CR)_6L_3]^+$ uzyskano na podstawie analizy pierwiastkowej, promieniowania rentgenowskiego oraz pomiaru podatności magnetycznej (dane pochodzące z widm elektronowych i Mossbauera) [229, 232, 248-251]. Metody spektrometrii mas ESI-MS oraz tandemowej spektrometrii mas CID MS/MS po raz pierwszy zastosowano do badania budowy różnych trójjądrowych kompleksów zawierających jony żelaza lub chromu połączone centralnym atomem tlenu i mostkami karboksylowymi przez van der Bergena [252].

Jednak wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że CID nie jest najlepszą metodą do badania struktury tego typu związków, gdyż dostarcza informacji jedynie na temat budowy ligandów zewnętrznych. Palii ze współpracownikami zastosowali ESI FT-ICR do analizy reakcji wymiany/podstawiania ligandów w kompleksach zawierających ligandy mieszane [253]. Corradini ze współpracownikami [254] podjęli udaną próbę zdeponowania trójjądrowych kompleksów zawierających Cr^{III} , Cr^{II} i Ni^{II} (cząsteczkowe nanomagnesy) na powierzchni $\text{Au}(111)$, wykorzystując spektrometr masowy wyposażony w elektrorozpylacz.

Mimo ogromnych potencjalnych możliwości spektrometria mas nie została jeszcze w pełni wykorzystana do diagnozowania budowy kompleksów metali typu $[\text{M}_3\text{O}(\text{O}_2\text{CR})_6\text{L}_3]^+$. Na rysunku 19 przedstawiono budowę takiego kompleksu.



Źródło: [Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2010, 21, 1398-1403 DOI: 10.1016/j.jasms.2010.03.042, Kaczorowska, M., Cooper, H.J., "Electron Induced Dissociation: A mass spectrometry technique for the structural analysis of Trinuclear Oxo-Centred Carboxylate-Bridged iron complexes." Scheme 1].

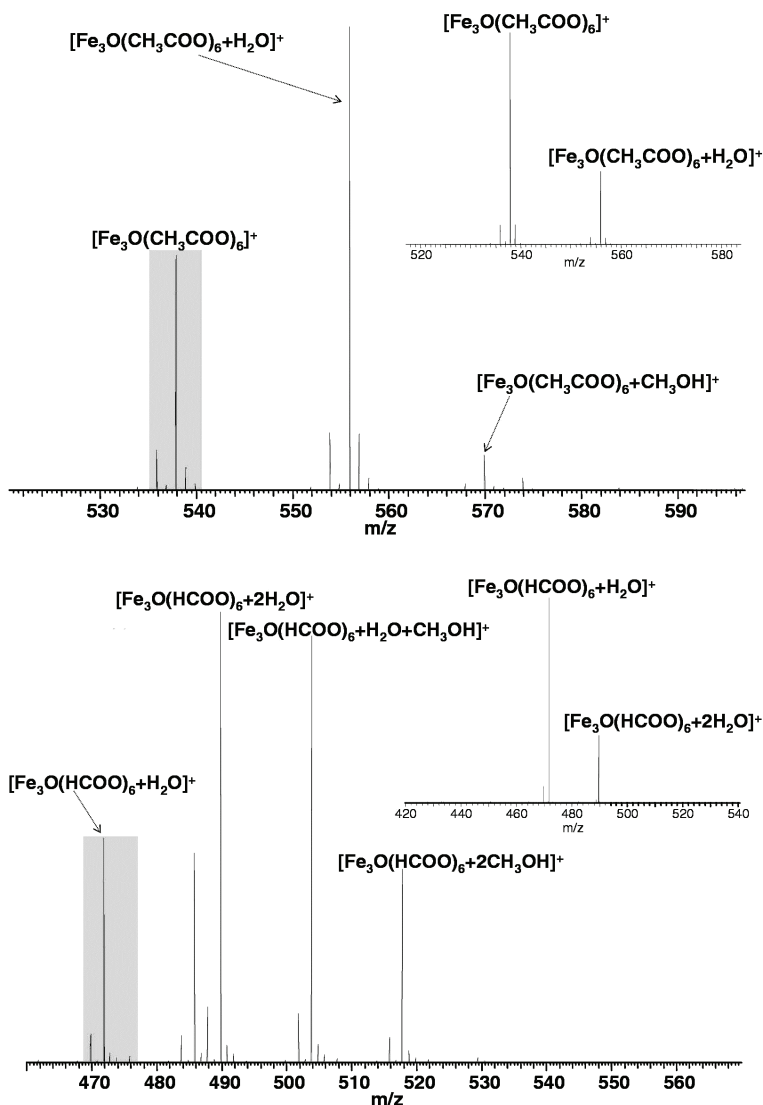
Rys. 19. Struktura trójjądrowego kompleksu $[\text{M}_3\text{O}(\text{O}_2\text{CR})_6\text{L}_3]^+$, gdzie R oznacza grupę alkilową, L oznacza ligand, którym może być metanol, woda, pirydyna [112]

Wyniki badania struktury kompleksów $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6]^+$ i $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6 + \text{H}_2\text{O}]^+$ za pomocą kombinacji metod tandemowej spektrometrii mas CID i EID przedstawione w opracowaniu i opublikowane wcześniej [112] są pierwszymi rezultatami tego rodzaju i udawadniają, że przy właściwym doborze metod fragmentacji, techniki MS/MS stają się doskonałym narzędziem do eksploatacji budowy tego typu związków. Metoda EID jest stosunkowo nową techniką, opartą na oddziaływaniu badanych jonów z elektronami o dużej energii, zastosowaną wcześniej, np. do analizy budowy jednododatnich jonów peptydów [82, 83, 255], kationów organicznych [256], klasterów tryptofanu [257], metabolitów [258], dimerów betainy [259], dimerów wodorków złota [260] oraz jednododatnich kationów klasterów chlorku sodowego [261]. Kompleksy typu $[\text{M}_3\text{O}(\text{O}_2\text{CR})_6\text{L}_3]$ tworzą kationy jednododatnie, nie można więc do ich badania stosować innych metod opartych na oddziaływaniu jon-elektron, takich jak metoda wychwytu elektronów ECD.

Widmo masowe ESI FT-ICR chlorku żelaza FeCl_3 rozpuszczonego w mieszaninie wody, metanolu i kwasu octowego, zamieszczone na rysunku 20a, zawiera piki odpowiadające następującym kationom obdarzonym pojedynczym ładunkiem: $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6]^+$ ($m/z_{\text{dośw}}$ 537,8779, m/z_{teor} 537,8791) $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6 + \text{H}_2\text{O}]^+$ ($m/z_{\text{dośw}}$ 555,8878, m/z_{teor} 555,8896), $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6 + \text{CH}_3\text{OH}]^+$ ($m/z_{\text{dośw}}$ 569,9052, m/z_{teor} 569,9053). Każdy z tych kompleksów zbudowany jest z rdzenia składającego się z trzech jonów żelaza połączonych centralnym atomem tlenu, każde dwie pary jonów żelaza łączą mostki utworzone przez dwie grupy octanowe.

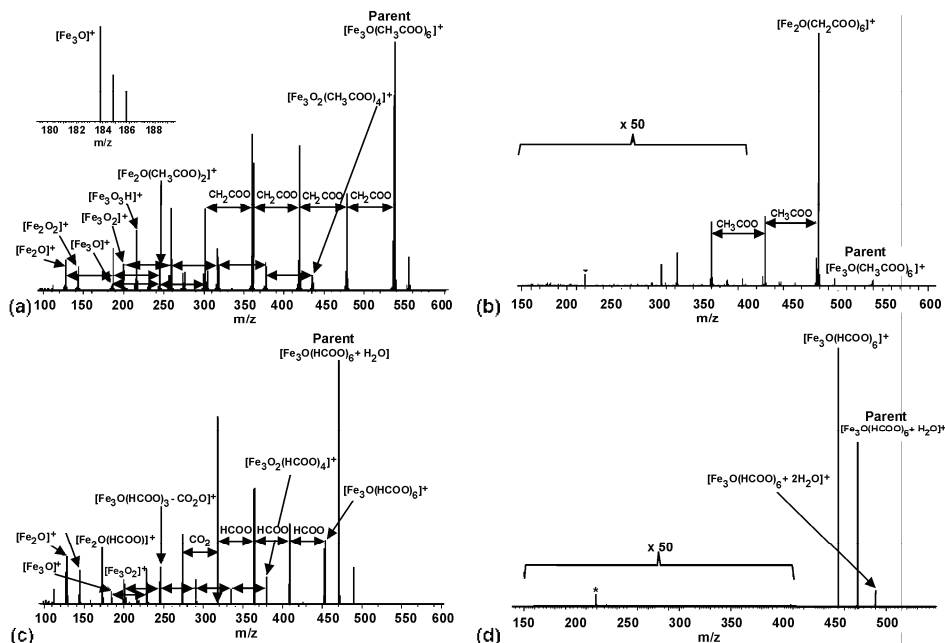
Celem przeprowadzonych doświadczeń było uzyskanie najobszerniejszych informacji na temat budowy kompleksów typu $[\text{M}_3\text{O}(\text{O}_2\text{CR})_6\text{L}_3]^+$, gdzie L może być równe 0, 1, 2, 3, a nie utworzenie kompleksów zawierających trzy ligandy zewnętrzne. Szczegółowa analiza przeprowadzonych doświadczeń wskazuje na to, że kompleksy zawierające ligand zewnętrzny zostały utworzone w liniowej pułapce jonowej instrumentu na skutek reakcji kompleksu $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6]^+$ z gazowymi cząsteczkami wody lub metanolu. Świadczy o tym widmo izolacyjne jonu $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6]^+$ umieszczone w głębi rysunku 20a, na którym oprócz piku jonu izolowanego widoczny jest pik odpowiadający kompleksowi zawierającemu jeden ligand zewnętrzny – wodę. Podobny proces zaobserwowano wcześniej analizując jony klasterów metali Ca_n^+ , Sr_n^+ i Ba_n^+ [262]. Rysunek 20b przedstawia widmo masowe ESI FT-ICR chlorku żelaza FeCl_3 rozpuszczonego w mieszaninie wody, metanolu i kwasu mrówkowego. Podobnie jak w przypadku zastosowania kwasu octowego również w tym przypadku można zaobserwować serię pików odpowiadających kationom zawierającym jeden lub dwa ligandy zewnętrzne: $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{HCOO})_6 + \text{H}_2\text{O}]^+$ ($m/z_{\text{dośw}}$ 471,7944, m/z_{teor} 471,7957), $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{HCOO})_6 + 2\text{H}_2\text{O}]^+$ ($m/z_{\text{dośw}}$ 489,8045, m/z_{teor} 489,8063), $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6 + 2\text{CH}_3\text{OH}]^+$ ($m/z_{\text{dośw}}$ 517,8362, m/z_{teor} 517,8376), $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{HCOO})_6 + \text{H}_2\text{O} + \text{CH}_3\text{OH}]^+$ ($m/z_{\text{dośw}}$ 503,8201 m/z_{teor} 503,8219). Widmo umieszczone w głębi rysunku 20b, będące widmem izolacyjnym jonu mającego jeden ligand zewnętrzny H_2O zawiera pik odpowiadający kompleksowi z dwiema cząsteczkami wody. Obserwowane zjawisko jest wynikiem reakcji izolowanego jonu z gazowymi cząsteczkami wody w liniowej pułapce jonowej spektrometru masowego.

Widmo masowe EID jednododatnich kompleksów żelaza $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6]^+$ przedstawione na rysunku 21a jest zdominowane przez serię pików odpowiadających jonom potomnym powstałym w wyniku procesu dysocjacji, który polega na oderwaniu kolejnych ligandów octanowych od jonu macierzystego; $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_5]^+$, $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_4]^+$, $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_3]^+$, $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_2]^+$, $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})]^+$ oraz Fe_3O^+ . Wszystkie jony fragmentacyjne powstające w procesie EID zostały wymienione w tabeli 11.



Źródło: (a) [Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2010, 21, 1398-1403 DOI: 10.1016/j.jasms.2010.03.042, Kaczorowska, M., Cooper, H.J., "Electron Induced Dissociation: A mass spectrometry technique for the structural analysis of Trinuclear Oxo-Centred Carboxylate-Bridged iron complexes." Figure 1].

Rys. 20. Widmo ESI FT-ICR chlorku żelaza w mieszaninie $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_3\text{COOH}$. Widmo umieszczone w prawym górnym rogu widma ESI FT-ICR to widmo izolacyjne jonów $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6]^+$, (b) Widmo ESI FT-ICR chlorku żelaza w mieszaninie $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{OH}/\text{HCOOH}$. Widmo umieszczone w prawym górnym rogu widma ESI FT-ICR to widmo izolacyjne jonów $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{HCOO})_6+\text{H}_2\text{O}]^+$ [112]



Źródło: [Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2010, 21, 1398-1403 DOI: 10.1016/j.jasms.2010.03.042, Kaczorowska, M., Cooper, H.J., "Electron Induced Dissociation: A mass spectrometry technique for the structural analysis of Trinuclear Oxo-Centred Carboxylate-Bridged iron complexes." Figure 2].

Rys. 21. (a) Widmo masowe EID jonów $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6]^+$ – podwójne strzałki oznaczają utratę ligandów CH_3COO , widmo umieszczone w lewym górnym rogu widma EID to powiększony region m/z pokazujący pik odpowiadający Fe_3O^+ , (b) Widmo masowe CID jonów $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6]^+$, (c) Widmo masowe EID jonów $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{HCOO})_6 + \text{H}_2\text{O}]^+$ – podwójne strzałki oznaczają utratę ligandów HCOO , (d) Widmo masowe CID jonów $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{HCOO})_6 + \text{H}_2\text{O}]^+$ – gwiazdką oznaczono piki będące zakłóceniami, wynikającymi z pracy instrumentu [112]

Tabela 11. Jony potomne utworzone w wyniku procesu EID kationów $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6]^+$ [112]

m/z doświadczalne	m/z teoretyczne	Jon
555,8979	555,8896	$[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6]^+ + \text{H}_2\text{O}$
537,8844	537,8791	$[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6]^+$
478,8714	478,8657	$[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_5]^+$
435,8527	435,8474	$[\text{Fe}_3\text{O}_2(\text{CH}_3\text{COO})_4]^+$
419,8566	419,8525	$[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_4]^+$
376,8380	376,8341	$[\text{Fe}_3\text{O}_2(\text{CH}_3\text{COO})_3]^+$
360,8421	360,8391	$[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_3]^+$
317,8236	317,8207	$[\text{Fe}_3\text{O}_2(\text{CH}_3\text{COO})_2]^+$
316,8522	316,8493	$[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_3 - \text{CO}_2]^+$
301,8283	301,8258	$[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_2]^+$
258,8093	258,8074	$[\text{Fe}_3\text{O}_2(\text{CH}_3\text{COO})]^+$
245,8927	245,8908	$[\text{Fe}_2\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_2]^+$
242,8143	242,8125	$[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})]^+$
216,7982	216,7968	$[\text{Fe}_3\text{O}_3\text{H}]^+$
199,7953	199,7941	$[\text{Fe}_3\text{O}_2]^+$
186,8786	186,8775	$[\text{Fe}_2\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})]^+$
183,8003	183,7992	$[\text{Fe}_3\text{O}]^+$
143,8598	143,8592	$[\text{Fe}_2\text{O}_2]^+$
127,8648	127,8642	$[\text{Fe}_2\text{O}]^+$

[Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2010, 21, 1398-1403 DOI: 10.1016/j.jasms.2010.03.042, Kaczorowska, M., Cooper, H.J., "Electron Induced Dissociation: A mass spectrometry technique for the structural analysis of Trinuclear Oxo-Centred Carboxylate-Bridged iron complexes." Table 1].

Drugi zaobserwowany proces fragmentacji to jednoczesna utrata jednego całego ligandu octanowego oraz części drugiego ligandu. W procesie rozerwane zostaje wiązanie pomiędzy jednym atomem tlenu a węglem karboksylowym ligandu, atom tlenu jest nadal przyłączony do kompleksu, natomiast reszta ligandu, czyli grupa (CH_3CO) odłącza się od niego. Najprawdopodobniej zjawisko to zachodzi na skutek wtórnych reakcji fragmentacji jonów potomnych powstałych w wyniku EID, np. poprzez zderzenia tych jonów z atomami helu w pułapce jonowej instrumentu. Następujące fragmenty widoczne na widmie EID są wynikiem tego procesu: $[\text{Fe}_3\text{O}_2(\text{CH}_3\text{COO})_4]^+$, $[\text{Fe}_3\text{O}_2(\text{CH}_3\text{COO})_3]^+$, $[\text{Fe}_3\text{O}_2(\text{CH}_3\text{COO})_2]^+$, $[\text{Fe}_3\text{O}_2(\text{CH}_3\text{COO})]^+$ oraz Fe_3O_2^+ . Piki odpowiadające kationom $[\text{Fe}_2\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_2]^+$, $[\text{Fe}_2\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})]^+$ oraz $[\text{Fe}_2\text{O}_2]^+$ i $[\text{Fe}_2\text{O}]^+$ powstały na skutek dezintegracji trójjądrowego rdzenia kompleksu, zbudowanego z jonów żelaza połączonych centralnym atomem tlenu. Proces ten może zachodzić poprzez utratę FeO z $[\text{Fe}_3\text{O}_2(\text{CH}_3\text{COO})_2]^+$ lub oderwanie Fe od kationu $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_2]^+$. Pik odpowiadający jonowi powstałemu w wyniku oderwania cząsteczki dwutlenku węgla od kationu zawierającego trzy ligandy octanowe $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_3 - \text{CO}_2]^+$ jest również widoczny na widmie EID.

Utrata ligandów octanowych z kompleksów jonów macierzystych $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6]^+$ podczas procesu EID jest związana ze zmianą stopnia utlenienia atomów żelaza. Obecność na widmie EID (rys. 21a) pików odpowiadającego kationowi rdzenia Fe_3O^+ świadczy jednoznacznie o tym, że proces fragmentacji jest nierozłącznie związany ze zmianą stopnia utlenienia Fe(III) na Fe(I) wszystkich trzech jonów żelaza. Tworzenie kompleksów metali z nietypowymi stopniami utlenienia metali w fazie gazowej było wcześniej obserwowane przez Stace i współpracowników [263-265].

Widmo masowe EID jednododatnich kompleksów żelaza $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{HCOO})_6 + \text{H}_2\text{O}]^+$ jest przedstawione na rysunku 21c, jony fragmentacyjne, powstające w tym procesie EID zostały wymienione w tabeli 12.

Tabela 12. Jony potomne utworzone w wyniku procesu EID kationów $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{HCOO})_6 + \text{H}_2\text{O}]^+$ [112]

m/z doświadczalne	m/z teoretyczne	Jon
489,8104	489,8063	$[\text{Fe}_3\text{O}(\text{HCOO})_6 + 2\text{H}_2\text{O}]^+$
471,7993	471,7957	$[\text{Fe}_3\text{O}(\text{HCOO})_6 + \text{H}_2\text{O}]^+$
453,7887	453,7852	$[\text{Fe}_3\text{O}(\text{HCOO})_6]^+$
424,7855	424,7824	$[\text{Fe}_3\text{O}_2(\text{HCOO})_5]^+$
408,7903	408,7875	$[\text{Fe}_3\text{O}(\text{HCOO})_5]^+$
379,7873	379,7848	$[\text{Fe}_3\text{O}_2(\text{HCOO})_4]^+$
363,7921	363,7898	$[\text{Fe}_3\text{O}(\text{HCOO})_4]^+$
334,7890	334,7871	$[\text{Fe}_3\text{O}_2(\text{HCOO})_3]^+$
318,7938	318,7922	$[\text{Fe}_3\text{O}(\text{HCOO})_3]^+$
289,7909	289,7894	$[\text{Fe}_3\text{O}_2(\text{HCOO})_2]^+$
274,8036	274,8023	$[\text{Fe}_3\text{O}(\text{HCOO})_3 - \text{CO}_2]^+$
244,7928	244,7918	$[\text{Fe}_3\text{O}_2(\text{HCOO})]^+$
228,7977	228,7968	$[\text{Fe}_3\text{O}(\text{HCOO})]^+$
199,7948	199,7941	$[\text{Fe}_3\text{O}_2]^+$
183,7997	183,7992	$[\text{Fe}_3\text{O}]^+$
172,8624	172,8619	$[\text{Fe}_2\text{O}(\text{HCOO})]^+$
143,8595	143,8592	$[\text{Fe}_2\text{O}_2]^+$
127,8645	127,8642	$[\text{Fe}_2\text{O}]^+$

[Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2010, 21, 1398-1403 DOI: 10.1016/j.jasms.2010.03.042, Kaczorowska, M., Cooper, H.J., "Electron Induced Dissociation: A mass spectrometry technique for the structural analysis of Trinuclear Oxo-Centred Carboxylate-Bridged iron complexes." Table 3].

Podobnie jak w przypadku trójjądrowych kompleksów żelaza z ligandami octanowymi również w przypadku jonów $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{HCOO})_6 + \text{H}_2\text{O}]^+$ można zaobserwować trzy podstawowe typy reakcji fragmentacji EID. Pierwsze dwa procesy to utrata kolejnych cząsteczek ligandów HCOO oraz jednoczesna utrata całego ligandu mrówczanowego oraz części innego ligandu mrówczanowego – atom tlenu z tego innego ligandu jest przyłączony do kompleksu, natomiast

grupa HCO zostaje oderwana. Trzeci typ reakcji dysocjacji EID to procesy wtórne, polegające na utworzeniu kationów $[\text{Fe}_2\text{O}(\text{HCOO})]^+$ i $[\text{Fe}_2\text{O}]^+$ w wyniku dezintegracji rdzenia kompleksu, na skutek oderwania FeO od $[\text{Fe}_3\text{O}_2(\text{HCOO})]^+$ i Fe_3O_2^+ lub poprzez oderwanie Fe od $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{HCOO})]^+$ i Fe_3O^+ . Dodatkowo zaobserwowano również proces dysocjacji polegający na utracie ligandu zewnętrznego, czyli cząsteczki wody z badanego jonu macierzystego, oraz utratę cząsteczki dwutlenku węgla od jonu potomnego zawierającego, trzy ligandy mrówczanowe.

Widma CID jonów kompleksów $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6]^+$ i $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{HCOO})_6 + \text{H}_2\text{O}]^+$ przedstawione na rysunkach 21b i d są dużo uboższe niż odpowiadające im widma EID. W przypadku fragmentacji kompleksu zawierającego ligandy CH_3COO można zaobserwować głównie utratę kolejnych trzech ligandów octanowych, a dla kompleksu z ligandami HCOO utratę ligandu zewnętrznego – wody oraz jednego ligandu mrówczanowego. Dane dotyczące jonów fragmentacyjnych powstających w procesie CID kompleksów $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6]^+$ wymieniono w tabeli 13. Obecność na widmie przedstawionym na rysunku 21d piku $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{HCOO})_6 + 2\text{H}_2\text{O}]^+$ jest wynikiem reakcji przyłączenia cząsteczki wody do jonu macierzystego w liniowej pałapce jonowej instrumentu FT-ICR.

Tabela 13. Jony potomne utworzone w wyniku procesu CID kationów $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6]^+$ [112]

m/z doświadczalne	m/z teoretyczne	Jon
537,8798	537,8791	$[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6]^+$
496,8768	496,8763	$[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_5 + \text{H}_2\text{O}]^+$
478,8864	478,8657	$[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_5]^+$
453,8583	453,8579	$[\text{Fe}_3\text{O}_2(\text{CH}_3\text{COO})_4 + \text{H}_2\text{O}]^+$
435,8478	435,8474	$[\text{Fe}_3\text{O}_2(\text{CH}_3\text{COO})_4]^+$
419,8522	419,8525	$[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_4]^+$
360,8396	360,8391	$[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_3]^+$
322,9151	322,9147	$[\text{Fe}_2\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_3 + \text{H}_2\text{O}]^+$
304,9045	304,9042	$[\text{Fe}_2\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_3]^+$

[Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2010, 21, 1398-1403 DOI: 10.1016/j.jasms.2010.03.042, Kaczorowska, M., Cooper, H.J., "Electron Induced Dissociation: A mass spectrometry technique for the structural analysis of Trinuclear Oxo-Centred Carboxylate-Bridged iron complexes." Table 2].

Metoda EID tandemowej spektrometrii mas dostarcza bardzo szczegółowych informacji na temat budowy jonów kompleksów $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6]^+$ i $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{HCOO})_6 + \text{H}_2\text{O}]^+$. W procesie fragmentacji obu badanych kompleksów można zaobserwować utratę wszystkich kolejnych ligandów octanowych/mrówczanowych oraz tworzenie kationu rdzenia Fe_3O^+ , składającego się z trzech jonów żelaza połączonych centralnym atomem tlenu. Bardzo duża dokładność w oznaczaniu masy jonów za pomocą spektrometru masowego

FT-ICR oraz rozkład izotopowy piku odpowiadającemu kationowi rdzenia nie pozostawiają żadnych wątpliwości w kwestii jego struktury. W przypadku kompleksu $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{HCOO})_6+\text{H}_2\text{O}]^+$ metoda EID dostarcza również danych na temat ligandu zewnętrznego – obserwuje się wówczas proces oderwania cząsteczki wody od jonu macierzystego. W przeciwieństwie do metody EID metoda CID dostarcza jedynie szczątkowych informacji na temat ligandów, wyniki analizy uzyskanych widm CID nie pozwalają na wyciągnięcie jakichkolwiek wniosków na temat budowy rdzenia badanych kompleksów. Wyniki przedstawionych doświadczeń doskonale świadczą o tym, że wybór metody fragmentacji tandemowej spektrometrii mas ma kluczowe znaczenie w analizie trójjądrowych kompleksów metali o wzorze $[\text{M}_3\text{O}(\text{O}_2\text{CR})_6\text{L}_3]^+$.

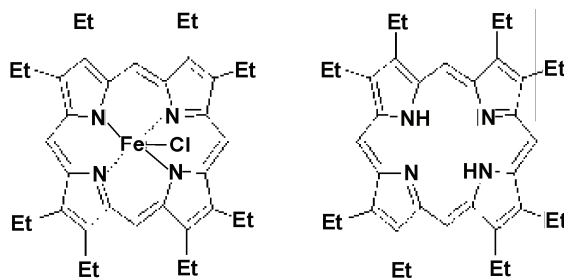
8. BADANIE STRUKTURY OKTAETYLOPORFIRYNY ORAZ JEJ KOMPLEKSU Z ŻELAZEM ZA POMOCĄ TECHNIKI EID MS²

Metaloporfiryny zbudowane są z cząsteczki porfiryny oraz jonu metalu. Porfiryny, pełniące funkcję ligandu dla jonów metalu, składają się z czterech pierścieni pirolowych, połączonych mostkami (=CH-) w układ o wysokim stopniu sprzężenia wiązań podwójnych [266]. Pirolowe atomy azotu porfiryny wiążą jon metalu, np. żelaza w pozycji ekwatorialnej, udostępniając dwie pozycje aksjalne dla innych ligandów. Cały układ ma geometrię piramidalną kwadratową. Struktura i właściwości metaloporfiryny zależą od rodzaju i właściwości jonu metalu, typu grup bocznych/zewnętrznych przyłączonych do porfiryny oraz od rodzaju ligandów anionowych, które mogą dodatkowo przyłączać się do jonów metalu [267-269]. Trójwymiarowa struktura metaloporfiryn oraz jej wpływ na właściwości tych związków były badane przez wielu naukowców, między innymi Hoarda [268, 270-273], Ratha [274-279], Scheidta [280-285].

Metaloporfiryny zwane są często „pigmentami życia” [286, 287], gdyż pełnią ważne funkcje w różnorodnych procesach życiowych organizmów – człowieka, zwierząt i roślin. Do grupy tych związków zalicza się między innymi hem, chlorofil, witaminę B12 oraz cytochromy [288-295]. Ze względu na ich ogromne znaczenie biologiczne, metaloporfiryny wzbudzają duże zainteresowanie naukowców od wielu lat [296-302]. Źródłem podstawowych informacji na temat budowy metaloporfiryn są wyniki badań przeprowadzonych przy użyciu promieniowania rentgenowskiego, metod NMR, IR, UV, metod elektrochemicznych oraz obliczeniowych [303-310]. Metody spektrometrii mas oraz tandemowej spektrometrii mas były również stosowane do badania struktury porfiryn oraz ich kompleksów z metalami [311-322]. Jednak w przypadku wielu porfiryn i metaloporfiryn, takich jak oktaetyloporfiryna OEP (*octaethylporphyrin*) i metalo-oktaetyloporfiryna MeOEP (*metallo-octaethylporphyrin*) dotychczas stosowane techniki fragmentacji, szczególnie CID dostarczały bardzo ubogich danych na temat budowy tych związków [323, 324]. Oktaetyloporfiryna oraz jej kompleks z żelazem stanowią najprostszy model dla bardziej złożonych porfiryn i metaloporfiryn, ważnych ze względu na funkcje, jakie pełnią w procesach biologicznych i geologicznych [325-328].

W opracowaniu przedstawiono wyniki badania struktury jonów oktaetyloporfiryny oraz jej kompleksu z żelazem za pomocą stosunkowo nowej metody fragmentacji EID. Wyniki te opublikowano [113]. Metodę EID tandemowej spektrometrii mas zastosowano po raz pierwszy do badania struktury jednododatnich jonów OEP⁺ i [Fe(III)OEP]⁺. Budowę oktaetyloporfiryny i jej kompleksów z metalami badano do tej pory między innymi przy użyciu metod spektrometrii mas wykorzystujących technikę jonizacji za pomocą elektronu (EI) [329-331]. Chociaż techniki EI i EID wydają się podobne, to jednak zasadniczo się różnią. EID należy do metod tandemowej spektrometrii mas, polega na

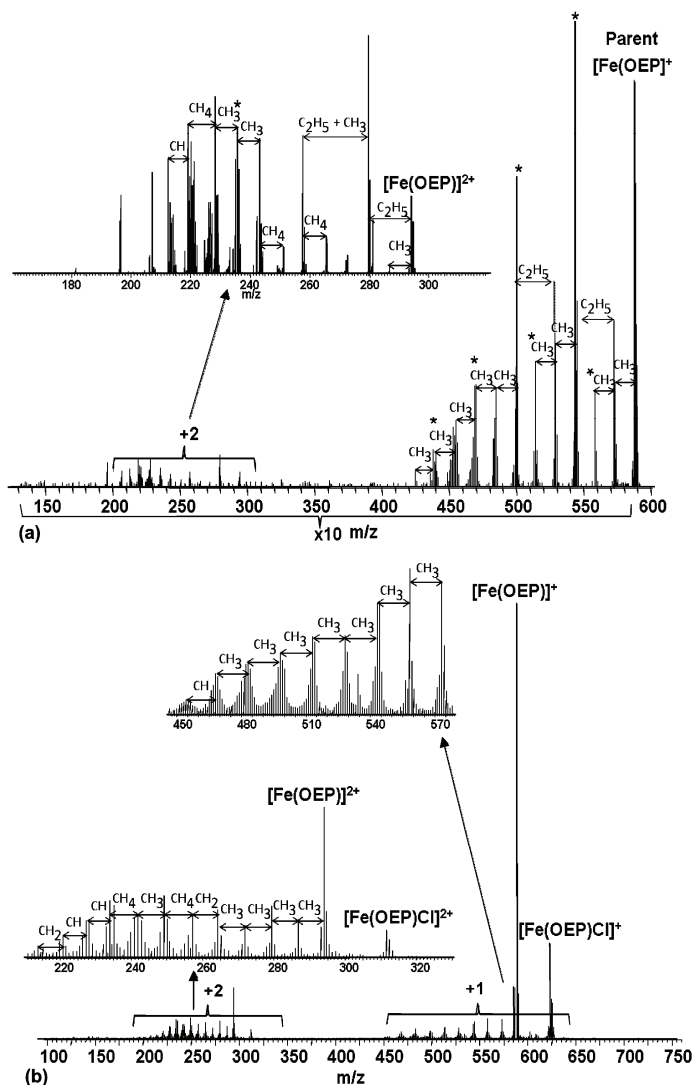
przeprowadzeniu kontrolowanej dysocjacji wyizolowanego jonu na skutek oddziaływania z elektronem o ściśle określonej energii (eV). EI to technika spektrometrii mas MS (a nie MS/MS), polega na jonizacji badanej cząsteczki przy pomocy wiązki elektronów w źródle jonów spektrometru. EI w odróżnieniu od EID uniemożliwia fragmentację tylko i wyłącznie wybranego jonu. Jony potomne obserwowane w procesie EI mogą być rezultatem zarówno dysocjacji badanej cząsteczki, jak i wtórnych procesów fragmentacji. W opracowaniu wyniki doświadczeń EID przeprowadzonych dla jonów OEP i Fe(III)OEP porównano z wynikami odpowiednich eksperymentów EI. Na rysunku 22 przedstawiono strukturę Fe[OEP]Cl i OEP.



Źródło: [113] [Reproduced by permission of Royal Society of Chemistry from Chemical Communications, 2011, 47, 418-420 DOI: 10.1039/c0cc02198a, Kaczorowska, M.A., Cooper H.J., "Electron induced dissociation (EID) tandem mass spectrometry of octaethylporphyrin and its iron (III) complex." Scheme 1].

Rys. 22. Struktura Fe[OEP]Cl i OEP

Spektrum masowe otrzymane w wyniku elektrorozpylenia Fe(OEP)Cl rozpuszczonego w roztworze chloroformu, metanolu i kwasu mrówkowego jest zdominowane przez intensywny pik odpowiadający $[\text{Fe}(\text{OEP})]^+$ ($m/z_{\text{dośw}} 588,2905$ $m/z_{\text{teor}} 588,2915$) oraz słaby sygnał pochodzący od rodnika kationu molekularnego $[\text{Fe}(\text{OEP})]^{+\bullet}$ ($m/z_{\text{dośw}} 623,2615$ $m/z_{\text{teor}} 623,2604$). Widmo EID jednododatnich jonów $[\text{Fe}(\text{OEP})]^+$, przedstawione na rysunku 23a, wskazuje dwie grupy jonów; w zakresie m/z 410-588 zawiera intensywne piki odpowiadające jonom jednododatnim, natomiast w zakresie m/z 210-290 dużo mniej intensywne sygnały korespondujące z jonami obdarzonymi ładunkiem dwudodatnim.



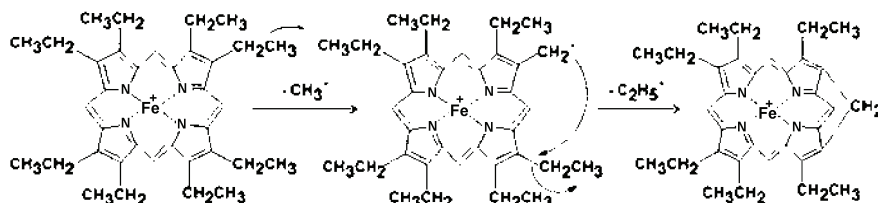
Źródło: [Reproduced by permission of Royal Society of Chemistry from Chemical Communications, 2011, 47, 418-420 DOI: 10.1039/c0cc02198a, Kaczorowska, M.A., Cooper H.J., "Electron induced dissociation (EID) tandem mass spectrometry of octaethylporphyrin and its iron (III) complex." Figure 1 a and b].

Rys. 23. (a) Spektrum masowe EID jonów $[\text{Fe}(\text{OEP})]^+$. Widmo zlokalizowane w lewym rogu widma EID przedstawia powiększony region m/z zawierający piki odpowiadające jonom dwudodatnim. – gwiazdką oznaczono fragmenty zawierające parzystą liczbę elektronów, (b) Widmo EI jonów $[\text{Fe}(\text{OEP})]^+$ – widmo górne przedstawia powiększony region m/z zawierający piki odpowiadające jonom jednododatnim, dolne dwudodatnim [113]

Widmo EI związku $[\text{Fe}(\text{OEP})]\text{Cl}$ widoczne na rysunku 23b, zawiera intensywny pik odpowiadający $[\text{Fe}(\text{OEP})]^+$ ($m/z_{\text{dośw}}$ 588,33), sygnał pochodzący od jonów $[\text{Fe}(\text{OEP})]^{2+}$ ($m/z_{\text{dośw}}$ 623,30) oraz serię pików odpowiadających jonom jedno- i dwudodatnim, występującym w tym samym zakresie m/z , jak w przypadku widma EID. Wcześniejsze opracowania, dotyczące EI metaloporfiryn i porfiryń wykazały, że intensywne piki na widmach EI, odpowiadające jonom dwudodatnim są rezultatem powstawania stabilnych jonów potomnych, zawierających system pierścieni pirolowych, tworzących układ makrocycliczny [329, 330]. Jednododatnie jony fragmentacyjne powstają w procesie EI w wyniku rozrywania wiązań β cząsteczki porfiryń i utraty odpowiedniej liczby grup metylowych (maksymalnie ośmiu), podczas gdy dwudodatnie jony potomne tworzą się na skutek rozrywania wiązań α i β i utraty grup metylowych i etylowych [329].

Szczegółowa analiza widma EI i EID kompleksu porfiryń z trójwartościowym jonem żelaza (rys. 23a i b) umożliwia zauważenie znaczących różnic. W przypadku widma EI zaobserwować można serię jonów potomnych jednododatnich, powstałych na skutek utraty maksymalnie ośmiu grup metylowych, natomiast w przypadku widma EID – aż jedenastu grup metylowych. Podczas trwania procesu EID zaobserwowano utratę obu rodników: metylowego i etylowego.

Najbardziej intensywne piki na widmie EID dla $m/z = 544,2313$ i $m/z = 500,1685$ odpowiadają jonom powstałym w wyniku utraty parzystej liczby rodników: jednego metylowego i jednego etylowego oraz dwóch metylowych i dwóch etylowych. Podobny mechanizm fragmentacji jonów metaloporfiryn zaobserwowano również w przypadku zastosowania metody tandemowej spektrometrii mas CID [323]. Równoczesna utrata rodników metylowego i etylowego w procesie fragmentacji EID jonów $[\text{Fe}(\text{OEP})]^+$ prowadzi do powstania szczególnie stabilnych jonów potomnych, zawierających parzystą liczbę elektronów. Proces ten przedstawiono na rysunku 24. Wyniki przeprowadzonych eksperymentów tandemowej spektrometrii mas świadczą o tym, że proces utraty dwóch różnych rodników, tj. metylowego i etylowego jest bardziej uprzywilejowany niż reakcja utraty dwóch identycznych rodników

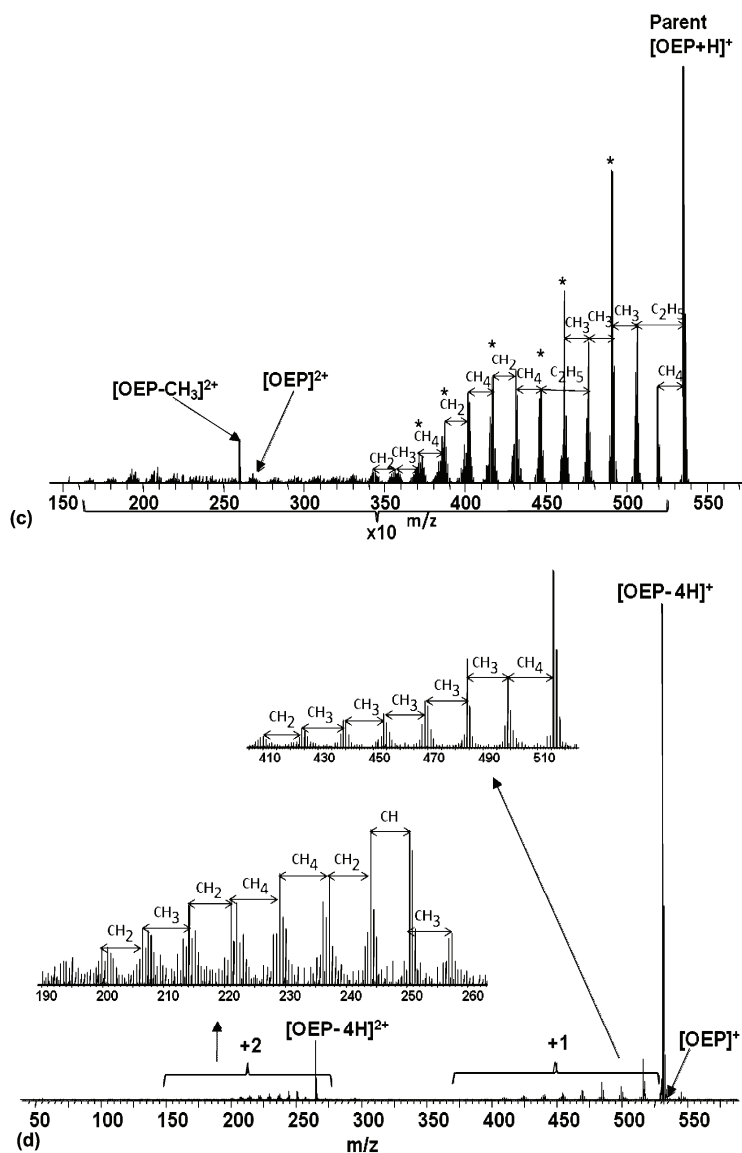


Źródło: [Reproduced by permission of Royal Society of Chemistry from Chemical Communications, 2011, 47, 418-420 DOI: 10.1039/c0cc02198a, Kaczorowska, M.A., Cooper H.J., "Electron induced dissociation (EID) tandem mass spectrometry of octaethylporphyrin and its iron (III) complex." Scheme 2].

Rys. 24. Utrata rodników metylowego i etylowego w procesie EID jonów $[(\text{Fe}(\text{OEP}))]^+$ [113]

Tworzenie dwudodatnich jonów potomnych w procesie EID jonów $[(\text{Fe}(\text{OEP}))^+]$ jest rezultatem dysocjacji spowodowanej tandemową jonizacją elektronami [82]. Zjawisko to nie jest czymś zaskakującym, biorąc pod uwagę, że EI oktaetyloporfiryn i ich kompleksów z metalami prowadzi do powstania dwudodatnich jonów dzięki obecności układów aromatycznych i atomów azotu w ich cząsteczkach [328, 329]. Te same czynniki przyczyniają się do zajścia procesu jonizacji zaobserwowanego w przypadku EID, gdy w reakcję są zaangażowane elektrony o stosunkowo dużej energii. W procesie jonizacji elektron może zostać oderwany zarówno od ligandu porfiryny, jak i jonu żelaza. W drugim przypadku oderwanie elektronu od $\text{Fe}(\text{III})$ prowadzi do powstania $\text{Fe}(\text{IV})$. Jest to możliwe; wcześniej opublikowane wyniki badań wykazały, że w fazie gazowej w procesie ECD dostępne są „nietypowe” stopnie utlenienia jonów metalu [112].

Szczegółowa analiza widma EID jonów $[\text{OEP}]^+$, przedstawionego na rysunku 25c sugeruje wniosek, że tworzenie dwudodatnich jonów potomnych nie jest tak uprzywilejowanym procesem jak w przypadku EID kompleksu oktaetyloporfiryny z żelazem. Obecność na widmie zaledwie dwóch dwudodatnich jonów potomnych: $[\text{OEP}+\text{H}]^{2+}$ dla $m/z = 267,6952$ i $[\text{OEP}-\text{CH}_3+\text{H}]^{2+}$ dla $m/z = 260,1784$ sugeruje, że to właśnie jon żelaza pełni istotną rolę w procesie jonizacji w doświadczeniach EID. Podobnie jak w przypadku widma EID jonów $[(\text{Fe}(\text{OEP}))^+]$ również widmo jonów oktaetyloporfiryny jest zdominowane przez serię pików odpowiadających jonom potomnym powstałym w wyniku oderwania rodników metylowych i etylowych. Najbardziej intensywne piki na widmie dla $m/z = 491,3192$ i $m/z = 461,2720$ można przyporządkować jonom utworzonym na skutek oderwania parzystej liczby rodników: metylowego i etylowego oraz dwóch metylowych. Widmo EI oktaetyloporfiryny przedstawione na schemacie 25d prezentuje bardzo intensywny sygnał dla $m/z = 530,93$, odpowiadający jonowi $[\text{OEP}-4\text{H}]^{+*}$ powstałemu w wyniku oderwania czterech protonów i przegrupowania w cząsteczce porfiryny oraz szereg jonów jedno- i dwudodatnich, będących wynikiem oderwania maksymalnie ośmiu grup metylowych. Słaby sygnał dla $m/z = 534,97$ odpowiada jonowi $[\text{OEP}]^+$. W odróżnieniu od EID w procesie EI nie zanotowano jonów potomnych, które byłyby rezultatem oderwania grup etylowych od badanej cząsteczki (rozerwanie wiązań α).



Źródło: [Reproduced by permission of Royal Society of Chemistry from Chemical Communications, 2011, 47, 418-420 DOI: 10.1039/c0cc02198a, Kaczorowska, M.A., Cooper H.J., "Electron induced dissociation (EID) tandem mass spectrometry of octaethylporphyrin and its iron (III) complex." Figure 1c 1and d].

Rys. 25. (c) Spektrum masowe EID jonów [OEP]⁺. Gwiazdką oznaczono fragmenty zawierające parzystą liczbę elektronów. (d) Widmo EI jonów [OEP]⁺. Widmo górne przedstawia powiększony region m/z zawierający piki odpowiadające jonom jednododatnim, dolne dwudodatnim [113]

Procesy fragmentacji EID MS/MS jonów oktaetyloporfiryny oraz jej kompleksów z żelazem(III) różnią się zasadniczo od tych obserwowanych w eksperymentach przeprowadzonych przy użyciu metod EI oraz CID [322, 328, 329]. Metoda EID dostarcza cennych informacji na temat struktury badanych związków; pozwala określić liczbę oraz budowę grup zewnętrznych ($-\text{CH}_2\text{CH}_3$) przyłączonych do pierścienia makrocyklicznego porfiryny; duża dokładność mas spektrometru FT-ICR oraz analiza rozkładu izotopowego pików odpowiadających jonom potomnym nie pozostawiają wątpliwości w kwestii budowy tych związków. Jednak jej zasadniczą przewagą nad metodą EI, która jest powszechnie stosowana w analizie różnego rodzaju porfiryn, jest możliwość przeprowadzenia kontrolowanej dysocjacji tylko jednego wybranego/wyzolowanego jonu. Ze względu na brak tej możliwości jony potomne obserwowane w procesie EI mogą być rezultatem zarówno dysocjacji badanej cząsteczki, jak i wtórnych procesów fragmentacji. Dzięki możliwości wykorzystania systemu ESI, dużej czułości i dokładności spektrometrów FT-ICR oraz łatwości analizowania widm EID (szczególnie w porównaniu z widmami EI) metoda EID ESI FT-ICR może być z powodzeniem wykorzystywana do badania struktury porfiryn oraz ich kompleksów z metalami.

9. ANALIZA BUDOWY KOMPLEKSÓW METALO-SUPRAMOLEKULARNYCH PRZY UŻYCIU METOD TANDEMOWEJ SPEKTROMETRII MAS: ECD, CID I IRMPD MS² I MS³

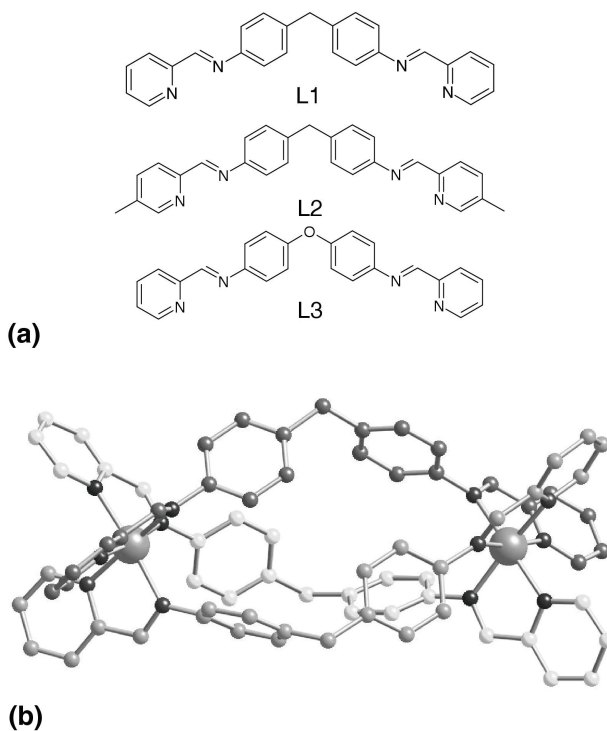
Chemia supramolekularna, często nazywana „chemią nadcząsteczkową”, zajmuje się zagadnieniami związanymi z układami/kompleksami powstającymi na skutek asocjacji przynajmniej dwóch indywiduów chemicznych, które są związane ze sobą za pomocą sił międzycząsteczkowych. Siłami takimi mogą być oddziaływania kulombowskie, dipolowe, wiązania wodorowe, przeniesienia ładunku, wiązania Van der Waalsa i inne, będące słabymi oddziaływaniami niekowalencyjnymi [332, 333]. W przypadku większych kompleksów niektóre elementy składowe układów supramolekularnych mogą być także połączone za pomocą klasycznych wiązań kowalencyjnych [334, 335]. Często budowa tego typu układów jest bardzo złożona, mogą składać się one z wielu różnych elementów [336, 337]. Pierwsze prace na temat kompleksów supramolekularnych pochodzą z lat 70. Dotyczą syntezy cyklicznych polieterów oraz ich zdolności do kompleksowania jonów metali [338-340], polieteru pełnią w tych układach rolę gospodarza a jony metali – gościa. Współczesna chemia supramolekularna zajmuje się również zagadnieniami związanymi z nanostrukturami, półprzewodnikami i przestrzenną katalizą [341-344]. Poznanie właściwości i budowy układów supramolekularnych jest szczególnie ważne ze względu na nauki biologiczne, gdyż naturalne układy supramolekularne tworzą między innymi DNA czy enzymy i koenzymy [345-350]. Kompleksy supramolekularne są stosowane w wielu dziedzinach, np. w medycynie czy elektronice [351-355]. Ich budowa i właściwości były badane za pomocą takich metod, jak: promieniowanie rentgenowskie, ¹³C NMR, spektroskopia UV [356-358].

Zastosowanie metod spektrometrii mas w badaniu kompleksów supramolekularnych w fazie gazowej pozwala na zbadanie ich właściwości oraz budowy bez wpływu i oddziaływania cząsteczek rozpuszczalnika. Porównanie właściwości kompleksu w fazie gazowej i ciekłej jest źródłem informacji o efektach solwatacji [359]. Wiele opublikowanych wyników badań kompleksów supramolekularnych za pomocą technik MS opierało się na wykorzystaniu łagodnych metod jonizacji [360, 361], aby nie dopuścić do niekontrolowanego zniszczenia kompleksu w trakcie badań. Metody tandemowej spektrometrii mas wykorzystywano do badania struktury supramolekularnych kompleksów (CID) [362], reaktywności i mechanizmów fragmentacji w fazie gazowej (IRMPD) [363-365] oraz zagadnień związanych z kinetyką (BIRD) [366].

W opracowaniu przedstawiono wyniki zastosowania metod tandemowej spektrometrii mas MS² i MS³: ECD, CID i IRMPD do badania budowy kompleksów metalo-supramolekularnych, zawierających podwójne i potrójne helikaty. Wyniki te opublikowano w pracy [114]. Metodę ECD wykorzystano do studiowania struktury tego typu związków po raz pierwszy. Wyniki przedsta-

wione poniżej dowodzą, że metoda tandemowej spektrometrii mas wychwytu elektronu dostarcza nie tylko wyczerpujących informacji na temat budowy badanych związków, ale ukazuje również ich nietypowe właściwości w fazie gazowej; dysocjacja badanych jonów prowadzi do powstania jonów potomnych o niespotykanych w fazie ciekłej stopniach utlenienia.

Kompleksy supramolekularne zawierające jony żelaza(II) oraz potrójne helikaty tworzą się w roztworze poprzez koordynację ligandów do oktaedrycznych jonów metalu [117]. Koordynacja trzech ligandów do dwóch centrów jonów metalu powoduje skręcenie cząsteczek ligandów, „owinięcie” ich wokół jonów Fe i w konsekwencji utworzenie potrójnej struktury helikalnej. Dodatkowo kompleksy tego typu są stabilizowane przez niekowalencyjne oddziaływania pomiędzy pierścieniami aromatycznymi ligandów (*π -stacking*). Struktura kompleksu supramolekularnego zawierającego jony Fe oraz struktury trzech ligandów, które wykorzystano w przeprowadzonych doświadczeniach przedstawiono na rysunku 26.



Źródło: [Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2010, 21, 300-309, DOI: 10.1016/j.jasms.2009.10.018, Kaczorowska, M.A., Hotze A.C.G., Hannon, M.J., Cooper, H.J., “Electron Capture Dissociation Mass Spectrometry of Metallo-Supramolecular Complexes”. Scheme 1].

Rys. 26. (a) Struktury ligandów L1, L2 i L3. (b) Struktura kompleksu supramolekularnego $[Fe_2L1_3]$ – w celu uproszczenia rysunek nie zawiera atomów wodoru [114]

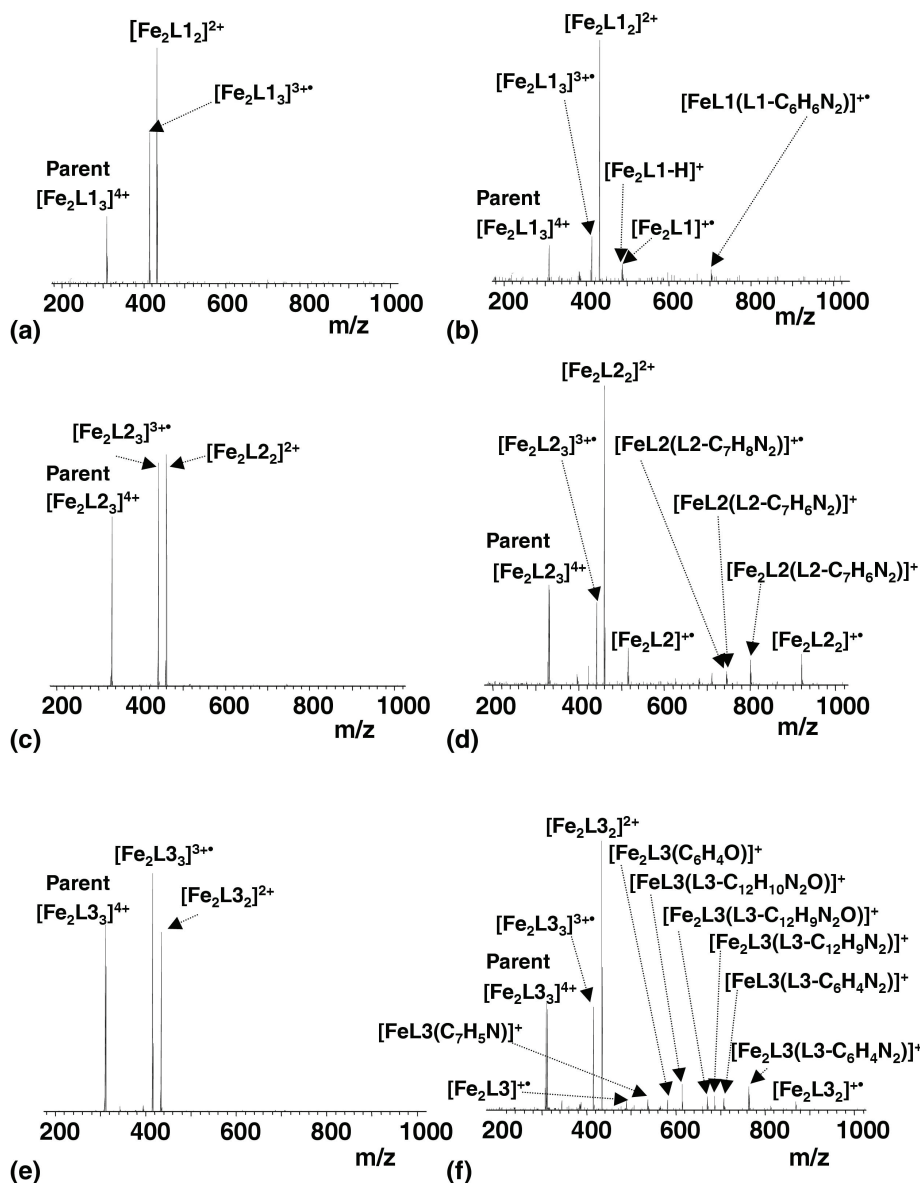
W przypadku reakcji ligandów tego typu z tetraedrycznymi jonami metali, takimi jak Cu(I) i Ag(I) tworzą się kompleksy typu: $[M_2L_2]^{2+}$ [367, 368]. Kompleksy $[M_2L_3]^{4+}$ i $[M_2L_2]^{2+}$ są rzadkim rodzajem metalo-supramolekularnych związków, wykazujących unikalne właściwości identyfikacji DNA [369-371].

Na pierwszym etapie badań przeprowadzono eksperymenty ECD dla jonów $[Fe_2L1_3]^{4+}$, $[Fe_2L2_3]^{4+}$ i $[Fe_2L3_3]^{4+}$. Widma ECD jonów przedstawiono na rysunku 27, a tabela 14 zawiera listę jonów potomnych obserwowanych w tych procesach.

Tabela 14. Jony potomne utworzone w wyniku procesu ECD jonów $[Fe_2L1_3]^{4+}$, $[Fe_2L2_3]^{4+}$, $[Fe_2L3_3]^{4+}$. Czas oddziaływania z elektronami wynosił 70 ms dla $[Fe_2L1_3]^{4+}$ i 100 ms dla pozostałych jonów [114]

m/z doświadczalne	m/z teoretyczne	Jon
$[Fe_2L1_3]^{4+}$		
310,0933	310,0936	$[Fe_2L1_3]^{4+}$
413,4576	413,4583	$[Fe_2L1_3]^{3+}$
432,1037	432,1033	$[Fe_2L1_2]^{2+}$
487,0296	487,0303	$[Fe_2L1-H]^+$
488,0387	488,0381	$[Fe_2L1]^{++}$
702,2205	702,2189	$[FeL1(L1-C_6H_6N_2)]^{++}$
$[Fe_2L2_3]^{4+}$		
331,1169	331,1171	$[Fe_2L2_3]^{4+}$
441,4891	441,4896	$[Fe_2L2_3]^{3+}$
460,1342	460,1346	$[Fe_2L2_2]^{2+}$
516,0688	516,0694	$[Fe_2L2]^{++}$
744,2639	744,2659	$[FeL2(L2-C_7H_8N_2)]^+$
746,2800	746,2815	$[FeL2(L2-C_7H_6N_2)]^+$
802,2142	802,2166	$[Fe_2L2(L2-C_7H_6N_2)]^+$
920,2668	920,2697	$[Fe_2L2_2]^{++}$
$[Fe_2L3_3]^{4+}$		
311,5778	311,5780	$[Fe_2L3_3]^{4+}$
415,4370	415,4376	$[Fe_2L3_3]^{3+}$
434,0821	434,0825	$[Fe_2L3_2]^{2+}$
490,0166	490,0174	$[Fe_2L3]^{++}$
537,1236	537,1246	$[FeL3(C_7H_5N)]^+$
582,0424	582,0436	$[Fe_2L3(C_6H_4O)]^+$
614,1499	614,1512	$[FeL3(L3-C_{12}H_{10}N_2O)]^+$
671,0933	671,0940	$[Fe_2L3(L3-C_{12}H_9N_2O)]^+$
687,0878	687,0889	$[Fe_2L3(L3-C_{12}H_9N_2)]^+$
708,1915	708,1931	$[FeL3(L3-C_6H_4N_2)]^+$
764,1262	764,1281	$[Fe_2L3(L3-C_6H_4N_2)]^+$
868,1624	868,1656	$[Fe_2L3_2]^{++}$

[Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2010, 21, 300-309, DOI: 10.1016/j.jasms.2009.10.018, Kaczorowska, M.A., Hotze A.C.G., Hannon, M.J., Cooper, H.J., "Electron Capture Dissociation Mass Spectrometry of Metallo-Supramolecular Complexes". Table 1].

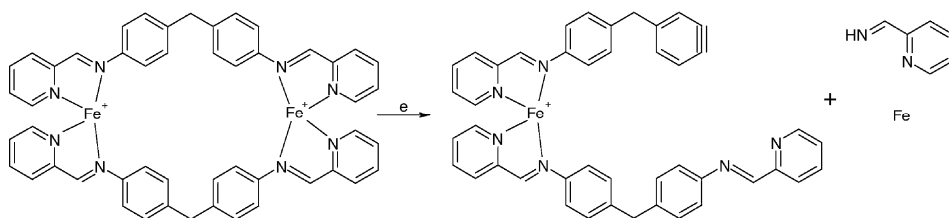


Źródło: [Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2010, 21, 300-309, DOI: 10.1016/j.jasms.2009.10.018, Kaczorowska, M.A., Hotze A.C.G., Hannon, M.J., Cooper, H.J., "Electron Capture Dissociation Mass Spectrometry of Metallo-Supramolecular Complexes". Figure 2].

Rys. 27. Widma ECD uzyskane po: (a) 30 ms, (b) 70 ms oddziaływania elektronów z jonami $[\text{Fe}_2\text{L1}_3]^{4+}$, (c) 30 ms, (d) 100 ms oddziaływania elektronów z jonami $[\text{Fe}_2\text{L2}_3]^{4+}$, (e) 30 ms, (f) 100 ms oddziaływania elektronów z jonami $[\text{Fe}_2\text{L3}_3]^{4+}$ [114]

Analiza widm pozwala wysnuć wniosek, że liczba obserwowanych jonów potomnych zależy od czasu oddziaływania analizowanych kationów z elektronami. Dla czasu 30 ms (rys. 27a, c, e) widma ECD są zdominowane przez piki odpowiadające jonom $[\text{Fe}_2\text{Lx}_2]^{3+}$ i $[\text{Fe}_2\text{Lx}_2]^{2+}$ ($x = 1$, lub 2, lub 3). W przypadku tworzenia pierwszego jonu potomnego wychwyt elektronu może nastąpić zarówno przez jon żelaza(II) (powstaje Fe(I)), jak i przez ligand (orbitale typu π), w przypadku drugiego jonu można mówić o kompleksie, zawierającym dwa centra Fe(I). Jon ten na skutek wychwyty elektronu ulega dalszym procesom fragmentacji, powstają jony $[\text{Fe}_2\text{L}_2]^{+}$, $[\text{Fe}_2\text{L}]^{+}$.

Gdy czas oddziaływania analizowanych jonów z elektronami wynosił 70-100 ms (rys. 27b, d, f), wówczas oprócz tworzenia jonów typu $[\text{Fe}_2\text{Lx}_2]^{2+}$ i $[\text{Fe}_2\text{Lx}_2]^{3+}$ zaobserwowano również fragmenty powstające w wyniku rozrywania wiązań ligandów, np. $[\text{FeL1}(\text{L1-C}_6\text{H}_6\text{N}_2)]^{+}$ czy $[\text{FeL2}(\text{L2-C}_7\text{H}_8\text{N}_2)]^{+}$. Proces rozrywania wiązań wewnątrz cząsteczek ligandów był obserwowany również w przypadku fragmentacji ECD kompleksów lantanowców z fosfopeptydami [372]. Rysunek 28 przedstawia uproszczony mechanizm oderwania fragmentu $\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2$ od jonu $[\text{Fe}_2\text{L1}_2]^{2+}$.



Źródło: [Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2010, 21, 300-309, DOI: 10.1016/j.jasms.2009.10.018, Kaczorowska, M.A., Hotze A.C.G., Hannon, M.J., Cooper, H.J., "Electron Capture Dissociation Mass Spectrometry of Metallo-Supramolecular Complexes". Scheme 1].

Rys. 28. Uproszczony mechanizm eliminacji $\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2$ z jonu $[\text{Fe}_2\text{L1}_2]^{2+}$ [114]

Na podstawie dokładnej analizy uzyskanych widm masowych ECD można wysnuć wnioski na temat struktury badanych kompleksów. Znaczna liczba oraz różnorodność jonów potomnych, będących wynikiem rozerwania wiązań wewnątrz ligandów kompleksów supramolekularnych, staje się źródłem informacji zarówno na temat budowy samych ligandów, jak i ich liczby oraz sposobu połączenia z centrami jonów żelaza kompleksów.

Ze względu na to, że jednym z najintensywniejszych sygnałów na widmach ECD jonów $[\text{Fe}_2\text{L1}_3]^{4+}$, $[\text{Fe}_2\text{L2}_3]^{4+}$, $[\text{Fe}_2\text{L3}_3]^{4+}$ jest sygnał pochodzący od jonu $[\text{Fe}_2\text{LX}_2]^{2+}$, gdzie $X = 1$ lub 2, lub 3, który do tej pory nigdy nie został wyizolowany i zbadany w fazie ciekłej, a stanowi niezwykle kompleks supramolekularny zawierający dwa jony żelaza(I) oraz podwójne helikaty, w celu dokładnego poznania jego właściwości i budowy przeprowadzono doświadcze-

nia MS³. Wyizolowano jony [Fe₂L1₂]²⁺, a następnie przeprowadzono ich fragmentację, stosując metody ECD, CID i IRMPD. Wyniki doświadczeń porównano z wynikami eksperymentów ECD, CID i IRMPD przeprowadzonych dla kompleksów supramolekularnych [Cu₂L1₂]²⁺ i [Ag₂L1₂]²⁺, zawierających jednowartościowe kationy miedzi oraz srebra. Uzyskane widma zamieszczone w opracowaniu dowodzą podobieństwa w obserwowanych procesach fragmentacji jonów [Fe₂L1₂]²⁺, [Cu₂L1₂]²⁺ i [Ag₂L1₂]²⁺. Dane na temat jonów potomnych utworzonych w wyniku fragmentacji ECD, CID i IRMPD jonów [Fe₂L1₂]²⁺, [Cu₂L1₂]²⁺ i [Ag₂L1₂]²⁺ zamieszczono w tabeli 15.

Tabela 15. Jony potomne utworzone w wyniku procesów MS² ECD, CID i IRMPD jonów [Cu₂L1₂]²⁺ i [Ag₂L1₂]²⁺ oraz ECD, SORI-CID i IRMPD [Fe₂L1₂]²⁺ [114]

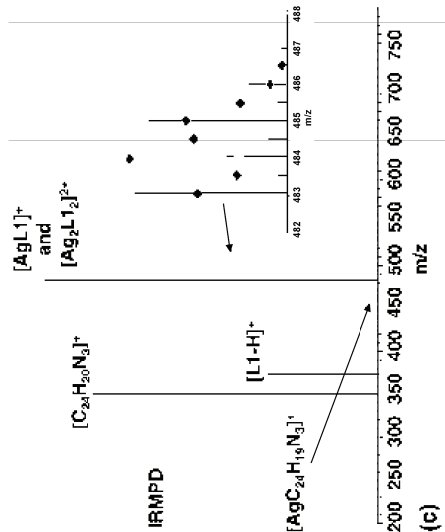
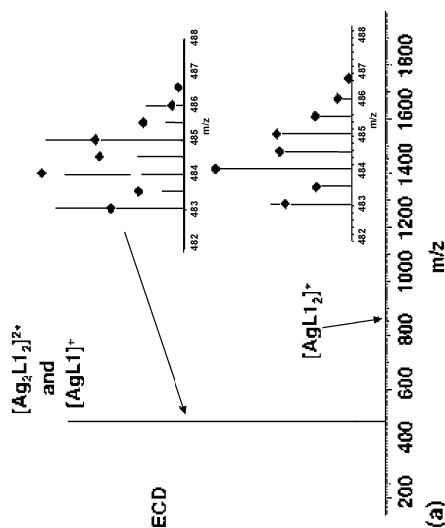
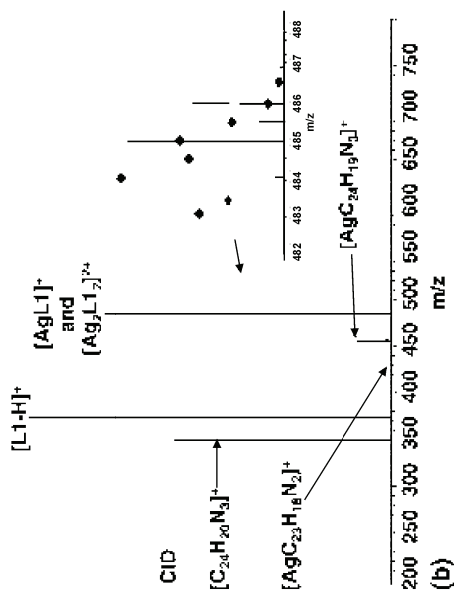
m/z doświadczalne	m/z teoretyczne	Jon
ECD		
Ag₂L1₂²⁺		
483,0763	483,0733	[Ag ₂ L1 ₂] ²⁺
	483,0733	[AgL1] ⁺
859,2495	859,2421	[AgL1 ₂] ⁺
Cu₂L1₂²⁺		
439,1003	439,1078	[Cu ₂ L1 ₂] ²⁺
815,2800	815,2766	[CuL1 ₂] ⁺
878,2102	878,2073	[Cu ₂ L1 ₂] ⁺⁺
Fe₂L1₂²⁺		
432,1020	432,1032	Fe ₂ L1 ₂ ²⁺
760,1661	760,1696	[Fe ₂ L1(L1-C ₆ H ₄ N ₂)] ²⁺
864,2029	864,2071	[Fe ₂ L1 ₂] ⁺
CID		
Ag₂L1₂²⁺		
350,1643	350,1651	[C ₂₄ H ₂₀ N ₃] ⁺
375,1593	375,1604	[L1-H] ⁺
429,0510	429,0515	[AgC ₂₃ H ₁₈ N ₂] ⁺
456,0617	456,0624	[AgC ₂₄ H ₁₉ N ₃] ⁺
483,0727	483,0733	[Ag ₂ L1 ₂] ²⁺
	483,0733	[AgL1] ⁺
Cu₂L1₂²⁺		
350,1639	350,1651	[C ₂₄ H ₂₀ N ₃] ⁺
360,0567	360,0656	[Cu(L1-C ₅ H ₅ N ₁)] ⁺
375,1593	375,1604	[L1-H] ⁺
399,5795	399,5867	[Cu ₂ L1(L1-C ₅ H ₅ N ₁)] ²⁺
412,0877	412,0969	[CuC ₂₄ H ₁₉ N ₃] ⁺
425,5979	425,6023	[Cu ₂ L1(C ₂₄ H ₁₉ N ₃)] ²⁺
439,0964	439,1078	[Cu ₂ L1 ₂] ²⁺
	439,1078	[CuL1] ⁺
528,0394	528,0505	[Cu ₂ C ₂₆ H ₂₀ N ₅] ⁺

cd. tabeli 15

Fe₂L1₂²⁺		
334,5561	334,5571	[Fe ₂ L1(L1- C ₁₃ H ₁₁ N ₂)] ²⁺
353,0599	353,0609	[Fe(L1- C ₅ H ₅ N)] ⁺
380,0822	380,0845	[Fe ₂ L1(L1- C ₆ H ₄ N ₂)] ²⁺
386,0764	386,0782	[Fe ₂ L1(L1- C ₆ H ₆ N)] ²⁺
392,5805	392,5821	[Fe ₂ L1(L1- C ₅ H ₅ N)] ²⁺
432,1013	432,1032	Fe ₂ L1 ₂ ²⁺
IRMPD		
Ag₂L1₂²⁺		
350,1657	350,1651	[C ₂₄ H ₂₀ N ₄] ⁺
375,1611	375,1604	[L1- H] ⁺
456,0629	456,0624	[AgC ₂₄ H ₁₉ N ₃] ⁺
483,0742	483,0733	[Ag ₂ L1 ₂] ²⁺
	483,0733	[AgL1] ⁺
Cu₂L1₂²⁺		
350,1656	350,1651	[C ₂₄ H ₂₀ N ₃] ⁺
360,0565	360,0656	[Cu(L1- C ₅ H ₅ N ₁)] ⁺
375,1615	375,1604	[L1- H] ⁺
399,5798	399,5867	[Cu ₂ L1(L1- C ₅ H ₅ N ₁)] ²⁺
412,0884	412,0969	[CuC ₂₄ H ₁₉ N ₃] ⁺
425,5991	425,6023	[Cu ₂ L1(C ₂₄ H ₁₉ N ₃)] ²⁺
439,0987	439,1078	[Cu ₂ L1 ₂] ²⁺
	439,1078	[CuL1] ⁺
528,0390	528,0505	[Cu ₂ C ₂₆ H ₂₀ N ₅] ⁺
Fe₂L1₂²⁺		
334,5566	334,5571	[Fe ₂ L1(L1- C ₁₃ H ₁₁ N ₂)] ²⁺
353,0606	353,0609	[Fe(L1- C ₅ H ₅ N)] ⁺
380,0841	380,0845	[Fe ₂ L1(L1- C ₆ H ₄ N ₂)] ²⁺
386,0774	386,0782	[Fe ₂ L1(L1- C ₆ H ₆ N)] ²⁺
392,5812	392,5821	[Fe ₂ L1(L1- C ₅ H ₅ N)] ²⁺
432,1020	432,1032	Fe ₂ L1 ₂ ²⁺

[Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2010, 21, 300-309, DOI: 10.1016/j.jasms.2009.10.018, Kaczorowska, M.A., Hotze A.C.G., Hannon, M.J., Cooper, H.J., "Electron Capture Dissociation Mass Spectrometry of Metallo-Supramolecular Complexes". Table 2].

Rys. 29a przedstawia widmo masowe ECD jonów [Ag₂L1₂]²⁺. Głównym produktem procesu wychwyty elektronu (30 ms) jest monomer AgL1⁺.



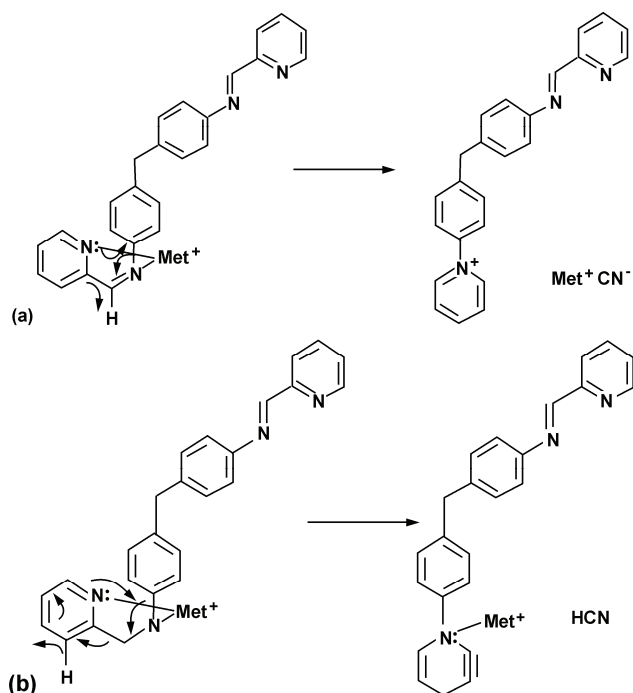
Źródło: [Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2010, 21, 300-309, DOI: 10.1016/j.jasms.2009.10.018, Kaczorowska, M.A., Hotze A.C.G., Hannon, M.J., Cooper, H.J., "Electron Capture Dissociation Mass Spectrometry of Metallo-Supramolecular Complexes", Figure 3].

Rys. 29. Widma masowe jonów $[Ag_2L1_2]^{2+}$, (a) ECD, (b) CID, (c) IRMPD [114]

Pik odpowiadający jonom monomeru nakłada się na pik odpowiadający jonom $[\text{Ag}_2\text{L1}_2]^{2+}$, dlatego obecność monomeru potwierdzono analizą rozkładu izotopowego. Widmo umieszczone w prawym górnym rogu rysunku 29a jest tego obrazem. Diamenty dotyczą teoretycznego rozkładu izotopowego dimeru, trójkąty – monomeru. Widmo umieszczone w prawym dolnym rogu rysunku 29a przedstawia rozkład izotopowy jonów wyizolowanych do doświadczenia ECD, potwierdzając, że monomer nie był obecny w wyizolowanych jonach przed przeprowadzeniem eksperymentu. Widma CID i IRMPD jonów $[\text{Ag}_2\text{L1}_2]^{2+}$ są przedstawione na rysunkach 29b i c. W procesach tych zaobserwowano trzy główne ścieżki fragmentacji: dysocjację dwujądrowego dimeru do jednojądrowego monomeru, dysocjację jednojądrowego monomeru na skutek utraty AgH oraz utratę HCN lub AgCN z monomeru. Dodatkowe widma zamieszczone po prawej stronie widm przedstawionych na rysunkach 29b i c dotyczą porównania rozkładu izotopowego jonów monomeru i dimeru.

Widmo masowe ECD jonów $[\text{Cu}_2\text{L1}_2]^{2+}$, przedstawione na rysunku 30a, pozwala wnioskować, że głównym produktem wychwytu elektronu jest pik odpowiadający kationorodnikowi $[\text{Cu}_2\text{L1}_2]^+$; sygnał korespondujący z monomerem CuL1^+ jest bardzo słaby.

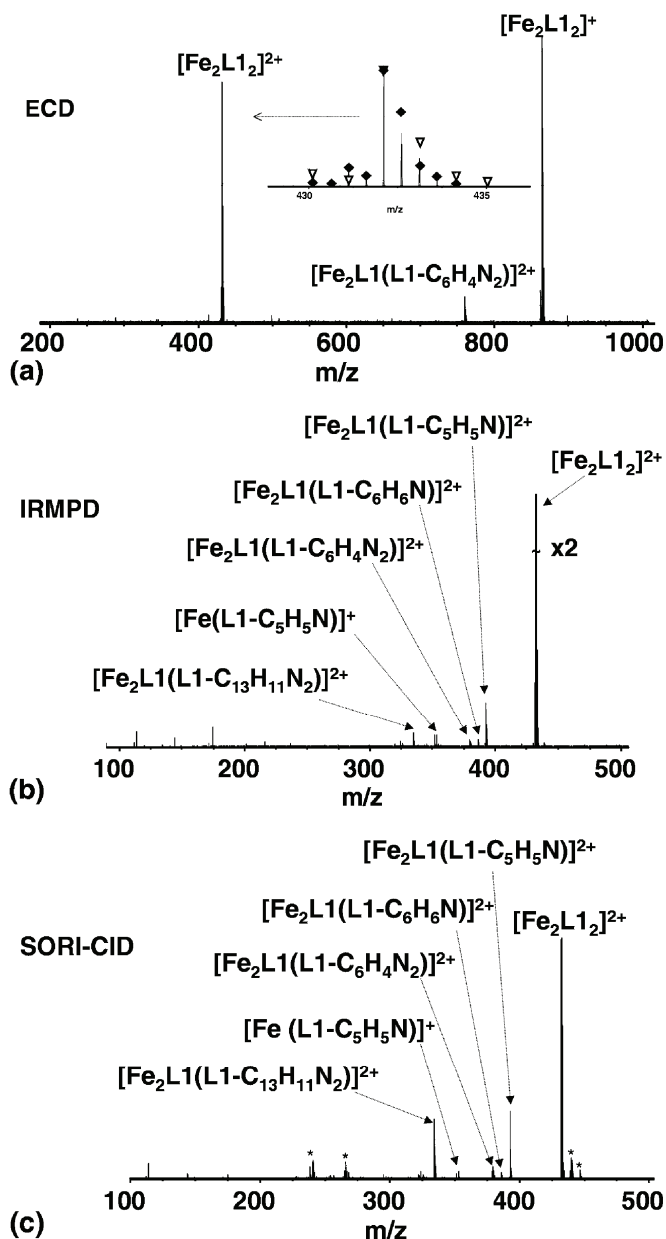
Widma masowe CID i IRMPD jonów kompleksu supramolekularnego miedzi przedstawione na rysunkach 30b i c, charakteryzują się podobnymi sygnałami do tych obserwowanych w przypadku $[\text{Ag}_2\text{L1}_2]^{2+}$. Zachodzące procesy dysocjacji można podzielić na trzy zasadnicze grupy: dysocjację dwujądrowego dimeru do jednojądrowego monomeru, dysocjację jednojądrowego monomeru na skutek utraty CuH oraz utratę HCN lub CuCN z monomeru. Rysunek 31 przedstawia proponowany mechanizm oderwania HCN oraz Ag/Cu-CN od jednojądrowych jonów monomeru. Ponadto zaobserwowano również procesy fragmentacji, których nie zanotowano w przypadku kompleksu srebra, polegające na rozerwaniu wiązań wewnątrz ligandów.



Źródło: [Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2010, 21, 300-309, DOI: 10.1016/j.jasms.2009.10.018, Kaczorowska, M.A., Hotze A.C.G., Hannon, M.J., Cooper, H.J., "Electron Capture Dissociation Mass Spectrometry of Metallo-Supramolecular Complexes". Scheme 3].

Rys. 31. Proponowany mechanizm oderwania (a) AgCN lub CuCN , (b) HCN od jednojądrowych jonów monomeru $[\text{AgL1}]^+ / [\text{CuL1}]^+$. Met^+ oznacza jon Ag^+ lub Cu^+ [114]

Widma masowe MS^3 ECD, SORI-CID i IRMPD jonów $[\text{Fe}_2\text{L1}_2]^{2+}$ przedstawiono na rysunku 32.



Źródło: [Reproduced with kind permission from Springer Science and Business Media, from Journal of the American Society of Mass Spectrometry, 2010, 21, 300-309, DOI: 10.1016/j.jasms.2009.10.018, Kaczorowska, M.A., Hotze A.C.G., Hannon, M.J., Cooper, H.J., "Electron Capture Dissociation Mass Spectrometry of Metallo-Supramolecular Complexes". Figure 5].

Rys. 32. Widma masowe MS3 jonów $[\text{Fe}_2\text{L}_1]^{2+}$: (a) ECD, (b) SORI-CID, (c) IRMPD [114]

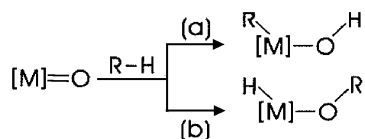
Proces wychwytu elektronu (a) skutkuje powstaniem jonu obdarzonego ładunkiem jednododatnim $[\text{Fe}_2\text{L1}_2]^+$. Podobny jon potomny powstawał w procesie ECD jonów kompleksów supramolekularnych miedzi, ale nie zaobserwowano go w przypadku jonów zawierających centra Ag^+ . Widma masowe MS^3 SORI-CID i IRMPD jonów $[\text{Fe}_2\text{L1}_2]^{2+}$ są zdominowane przez piki odpowiadające jonom potomnym powstałym w wyniku rozerwania wiązań wewnętrznych ligandów, np. $[\text{Fe}_2\text{L1}(\text{L1-C}_5\text{H}_5\text{N})]^{2+}$ czy $[\text{Fe}(\text{L1-C}_5\text{H}_5\text{N})]^+$. Podobne procesy fragmentacji zaobserwowano w przypadku CID i IRMPD kompleksów miedzi, ale nie srebra. Jon $[\text{Fe}(\text{L1-C}_5\text{H}_5\text{N})]^+$ musi być rezultatem dysocjacji dwujądrowego dimeru do jednojądrowego monomeru, procesu, który zachodził zarówno dla kompleksów miedzi, jak i srebra. Jednak w przypadku żelaza nie zanotowano na widmie masowym sygnału odpowiadającego jednojądrowemu monomerowi.

Podsumowując można stwierdzić, że procesy dysocjacji ECD, SORI-CID i IRMPD jonów $[\text{Fe}_2\text{L1}_2]^{2+}$ wykazują podobieństwa do zaobserwowanych w przypadku $[\text{Cu}_2\text{L1}_2]^{2+}$, ale różnią się od fragmentacji jonów $[\text{Ag}_2\text{L1}_2]^{2+}$. Z kolei dysocjacja jonów kompleksów miedzi we wszystkich przeprowadzonych eksperymentach wykazuje podobieństwa zarówno do dysocjacji jonów $[\text{Fe}_2\text{L1}_2]^{2+}$, jak i $[\text{Ag}_2\text{L1}_2]^{2+}$.

Wyniki doświadczeń tandemowej spektrometrii mas przedstawione w opracowaniu świadczą o tym, że metody MS^2 (CID, ECD, IRMPD) i MS^3 (SORI-CID, ECD, IRMPD) mogą z powodzeniem być wykorzystywane do badania budowy i właściwości metalo-supramolekularnych kompleksów. Dostarczają one informacji na temat struktury samych ligandów, w tym przypadku potrójnych/podwójnych helikat, ale również na temat stechiometrii badanych kompleksów i sposobu powiązania ligandów z centralnymi jonami metali. Metodę ECD zastosowano do badania tego typu związków po raz pierwszy, wyniki badań wykazują, że może ona mieć ogromne znaczenie nie tylko jako technika analityczna, ale również może być wykorzystywana do wyizolowania wcześniej nieznanych metalo-supramolekularnych kompleksów mogących istnieć tylko w fazie gazowej (kompleksy zawierające $\text{Fe}(\text{I})$).

10. ZASTOSOWANIE METODY CID TANDEMOWEJ SPEKTROMETRII MAS DO BADANIA STRUKTURY DWÓCH TYPÓW KOMPLEKSÓW WANADU(V): ALKOKSYLOWYCH ORAZ ZAWIERAJĄCYCH CZĄSTECZKĘ KWASU DIKARBOKSYLOWEGO

Metale przejściowe oraz ich tlenki wykorzystywane w wielu procesach jako katalizatory charakteryzujące się wysoką selektywnością i aktywnością [373, 374], są powszechnie stosowane w przemyśle chemicznym oraz petrochemicznym. Spośród tlenków metali przejściowych szczególnie ważną grupą związków wykorzystywanych w reakcjach katalizy są tlenki wanadu stosowane w procesach selektywnego utleniania oraz jako związki wspomagające w różnych aplikacjach [375-380]. Stosuje się je między innymi w procesie utleniania dwutlenku siarki w przemysłowej produkcji kwasu siarkowego oraz w procesach utleniania węglowodorów, np. propanu czy butanu w produkcji kwasu maleinowego oraz jego bezwodnika [381]. Tlenki metali przejściowych o wysokich stopniach utlenienia umożliwiają aktywację wiązań C-H lub O-H w wielu istotnych procesach chemicznych i biologicznych [382]. Aktywacja wiązania C-H alkanów przez tlenki metali przejściowych może następować w wyniku dwóch procesów przedstawionych na rysunku 33: (a) transferu atomu wodoru z wiązania C-H alkanu do atomu tlenu tlenku metalu z równoczesnym przyłączeniem reszty alkanu do atomu metalu, (b) utworzenia wiązania C-O pomiędzy atomem tlenu tlenku metalu a atomem węgla pochodzącym z węglowodoru z jednoczesnym utworzeniem dodatkowego wiązania wodór-metal. Rozstrzygnięcie, który z tych dwóch procesów jest uprzywilejowany, nie jest łatwe, ponieważ produkty reakcji są trudne do wyizolowania lub nietrwałe. Zastosowanie teoretycznych metod obliczeniowych również nie dostarcza jednoznacznej odpowiedzi [383], a ponadto wiąże się z koniecznością uwzględnienia w obliczeniach wielu nisko leżących, wzbudzonych stanów elektronowych, charakterystycznych dla tlenków metali przejściowych [384-387]. Wiele wyników badań dowodzi, że kompleksy alkoksylowe wanadu, powstające w wyniku reakcji (b) (rys. 33), pełnią istotną rolę w procesach selektywnego utleniania, np. metanolu do formaldehydu [388]. Kompleksy powstające jako produkty przejściowe w procesach utleniania alkanów przy udziale tlenków wanadu [389-392] różnią się budową i właściwościami dlatego konieczne jest opracowanie szybkiej i prostej metody, która pozwoliłaby na zbadanie ich struktury, a w konsekwencji – na wyjaśnienie mechanizmów obserwowanych reakcji. Metody tandemowej spektrometrii mas wykorzystano z powodzeniem do badania budowy prostych kompleksów wanadu [393].

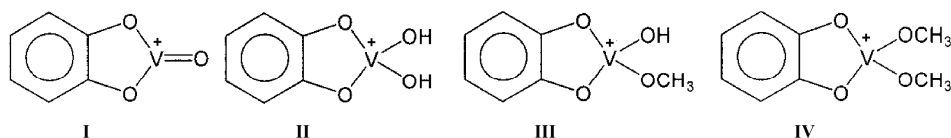


Źródło: [Reproduced with kind permission from John Wiley and Sons from European Journal of Inorganic Chemistry, 2005, 14, 2919-2923 DOI: 10.1002/ejic.200500155, Kaczorowska, M., Schroder, D., Schwarz, H., "Fragmentation of alkoxo(catecholato)vanadium(V) complexes $[(C_6H_4O_2)V(OR^1)(OR^2)]^{(+)}$ in the gas phase." Scheme 1].

Rys. 33. Drogi aktywacji wiązań C-H alkanów przez tlenki metali przejściowych [115]

W opracowaniu przedstawiono wyniki badania budowy i dysocjacji kompleksów wanadu(V) typu $[(L)V(OR^1)(OR^2)]^+$, gdzie $R^1, R^2 = CH_3, C_2H_5, n-C_3H_7, i-C_3H_7, t-C_4H_9$, $L = C_6H_4O_2$ (ligand katecholowy) za pomocą metody CID tandemowej spektrometrii mas. Wyniki te opublikowano [115]. Eksperymenty przeprowadzono z zastosowaniem elektrorozpylania (ESI), co pozwoliło na analizowanie badanych kompleksów bez udziału rozpuszczalnika i w konsekwencji – uzyskanie szczegółowych informacji na temat struktury i stechiometrii badanych jonów. Analiza reakcji fragmentacji tych związków w fazie gazowej pozwala również na lepsze zrozumienie procesów, jakim ulegają w fazie skondensowanej.

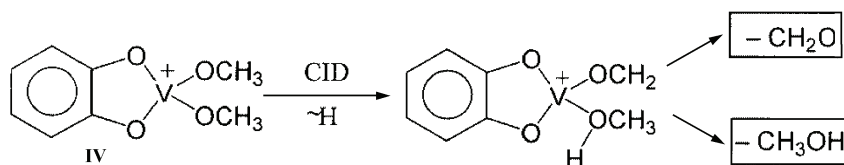
Widmo masowe ESI, $VOCl_3$ w roztworze metanolu z niewielką ilością katecholu wykazuje obecność pików, które odpowiadają jednododatnim jonom zawierającym atom wanadu(V), przedstawionym na rysunku 34. W najprostszym kompleksie oznaczonym I centralny atom wanadu jest połączony za pośrednictwem dwóch atomów tlenu z pierścieniem katecholowym, dodatkowo łączy się za pomocą wiązania podwójnego z atomem tlenu z $VOCl_3$. Sygnał pochodzący od kationu I jest obecny na widmach CID wszystkich badanych kompleksów typu $[(L)V(OR^1)(OR^2)]^+$. Widmo masowe CID wyizolowanego jonu I jest zdominowane przez pik odpowiadający kationowi VO^+ , dodatkowe mniej intensywne piki są wynikiem utraty przez jon macierzysty odpowiednio: CO, CO_2 , dwóch cząsteczek CO . W przypadku kationów II i III w procesie CID zaobserwować można utratę odpowiednio cząsteczki wody oraz metanolu, co prowadzi do utworzenia jonu potomnego I.



Źródło: [Reproduced with kind permission from John Wiley and Sons from European Journal of Inorganic Chemistry, 2005, 14, 2919-2923 DOI: 10.1002/ejic.200500155, Kaczorowska, M., Schroder, D., Schwarz, H., "Fragmentation of alkoxo(catecholato)vanadium(V) complexes $[(C_6H_4O_2)V(OR^1)(OR^2)]^{(+)}$ in the gas phase." Scheme 2].

Rys. 34. Struktura kationów typu $[(L)V(OR^1)(OR^2)]^+$, powstałych w wyniku elektro-rozpylenia $VOCl_3$ w CH_3OH z dodatkiem $(C_2H_4O_2)$ [115]

Widmo masowe CID jonu IV jest zdominowane przez sygnały odpowiadające odpowiednio: utracie rodnika metylowego, CH_2O oraz CH_3OH . Mechanizm utraty CH_2O oraz CH_3OH jest związany z migracją atomu wodoru, proces ten zobrazowano na rysunku 35. Tabela 16 zawiera dane na temat procesów utraty obojętnych fragmentów/cząsteczek z wyizolowanych jonów I-IV w procesie fragmentacji CID.



Źródło: [Reproduced with kind permission from John Wiley and Sons from European Journal of Inorganic Chemistry, 2005, 14, 2919-2923 DOI: 10.1002/ejic.200500155, Kaczorowska, M., Schroder, D., Schwarz, H., "Fragmentation of alkoxo(catecholato)vanadium(V) complexes $[(\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_2)\text{V}(\text{OR}^1)(\text{OR}^2)]^{(+)}$ in the gas phase." Scheme 3].

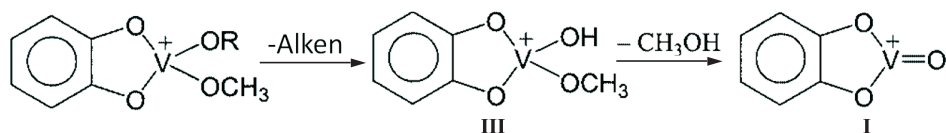
Rys. 35. Mechanizm dysocjacji CID jednododatniego jonu IV [115]

Tabela 16. Utrata obojętnych fragmentów (różnica mas Δm) w procesie CID jonów I-IV, wygenerowanych poprzez elektrorozpylenie VOCl_3 w metanolu z dodatkiem katecholu. Wyniki podane w odniesieniu do pików bazowego (100) produktów CID [115]

	-15	-18	-28	-30	-32	-44	-45
I			100			60	
II		100	96				
III					100		
IV	100			55	45		27

[Reproduced with kind permission from John Wiley and Sons from European Journal of Inorganic Chemistry, 2005, 14, 2919-2923 DOI: 10.1002/ejic.200500155, Kaczorowska, M., Schroder, D., Schwarz, H., "Fragmentation of alkoxo(catecholato)vanadium(V) complexes $[(\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_2)\text{V}(\text{OR}^1)(\text{OR}^2)]^{(+)}$ in the gas phase." Table 1].

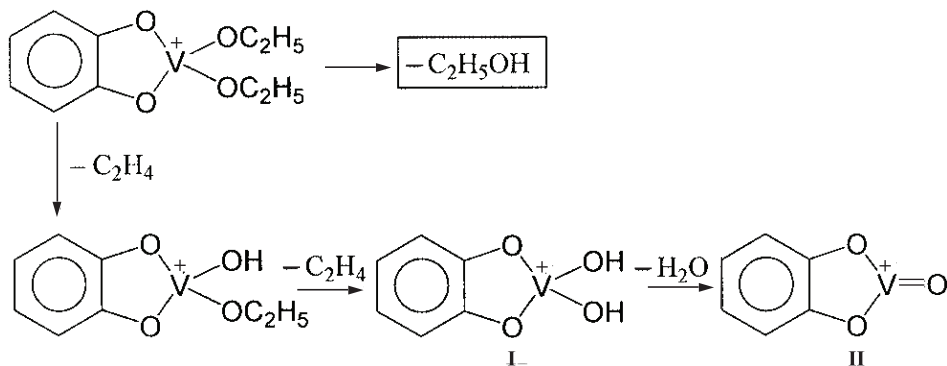
Widma masowe CID wszystkich kompleksów mieszanych są zdominowane przez piki odpowiadające jonom potomnym, powstałym przez oderwanie od jonu macierzystego alkenów utworzonych z większej grupy alkoksylowej: C_2H_4 , C_3H_6 , C_4H_8 . Proces eliminacji alkenów, przedstawiony na rysunku 36 skutkuje utworzeniem jonu potomnego III, który ulega dalszej degradacji do kompleksu I.



Źródło: [Reproduced with kind permission from John Wiley and Sons from European Journal of Inorganic Chemistry, 2005, 14, 2919-2923 DOI: 10.1002/ejic.200500155, Kaczorowska, M., Schroder, D., Schwarz, H., "Fragmentation of alkoxo(catecholato)vanadium(V) complexes $[(C_6H_4O_2)V(OR^1)(OR^2)]^+$ in the gas phase." Scheme 4].

Rys. 36. Mechanizm dysocjacji kompleksów mieszanych $[(L)V(OR^1)(OR^2)]^+$ w procesie CID, $R^1 = CH_3$, $R^2 = C_2H_5, C_3H_7, C_4H_9$ [115]

Dla kompleksów zawierających dwie grupy alkoksylowe większe od metoksyłowej proces eliminacji alkenu prowadzi do utworzenia jonu potomnego II, który na skutek utraty cząsteczki wody ulega degradacji do kationu I, mechanizm ten przedstawiono na rysunku 37.



Źródło: [Reproduced with kind permission from John Wiley and Sons from European Journal of Inorganic Chemistry, 2005, 14, 2919- 2923 DOI: 10.1002/ejic.200500155, Kaczorowska, M., Schroder, D., Schwarz, H., "Fragmentation of alkoxo(catecholato)vanadium(V) complexes $[(C_6H_4O_2)V(OR_1)(OR_2)]^+$ in the gas phase." Scheme 5].

Rys. 37. Mechanizm dysocjacji CID kompleksów $[(L)V(OR^1)(OR^2)]^+$, R^1 i $R^2 = C_2H_5, C_3H_7, C_4H_9$ [115]

Proces taki jest niemożliwy, gdy jedną z grup jest $R = CH_3$, ponieważ z tej grupy nie może oderwać się alken. Dane dotyczące obserwowanych procesów utraty obojętnych cząsteczek i fragmentów ze wszystkich badanych kompleksów $[(L)V(OR^1)(OR^2)]^+$ w procesach CID, zawarte są w tabeli 17.

Tabela 17. Utrata obojętnych fragmentów (różnica mas Δm) w procesie CID kompleksów $[(L)V(OR^1)(OR^2)]^+$ wygenerowanych poprzez elektrorozpylenie $VOCl_3$ z dodatkiem katecholu w metanolu, propanolu, izopropanolu, tert-butanolu oraz w mieszaninach tych alkoholi (1:1, obj.). Wyniki podane w odniesieniu do piku bazowego (100) produktów CID [115]

R^1/R^2	-15	-18	-28	-30	-32	-42	-46	-56	-60	-74	-84	-88	-98
CH_3/CH_3	100			65	37								
CH_3/C_2H_5			100		15		14		11				
$CH_3/n-C_3H_7$					6	100			11	7			
$CH_3/i-C_3H_7$					100	62			77	15			
$CH_3/t-C_4H_9$		44			19			100		13		13	
C_2H_5/C_2H_5			100				80	30		3			
$C_2H_5/n-C_3H_7$			1			100	15		6				
$C_2H_5/i-C_3H_7$						100	78		33				
$C_2H_5/t-C_4H_9$							33	100		7			
$n-C_3H_7/n-C_3H_7$						100			1		70		
$n-C_3H_7/t-C_4H_9$						6		100					3
$i-C_3H_7/i-C_3H_7$						100			5		75		
$i-C_3H_7/t-C_4H_9$						1		100	22				3
$i-C_4H_9/t-C_4H_9$								100		32			

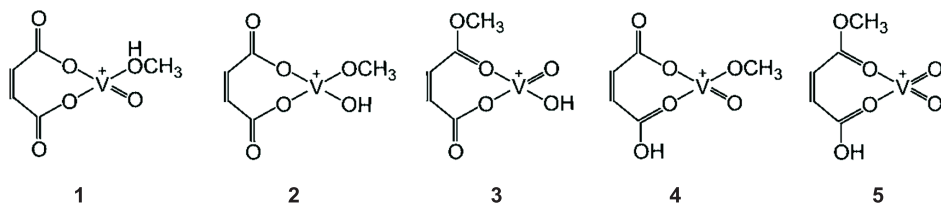
[Reproduced with kind permission from John Wiley and Sons from European Journal of Inorganic Chemistry, 2005, 14, 2919-2923 DOI: 10.1002/ejic.200500155, Kaczorowska, M., Schroder, D., Schwarz, H., "Fragmentation of alkoxo(catecholato)vanadium(V) complexes $[(C_6H_4O_2)V(OR^1)(OR^2)]^+$ in the gas phase." Table 2].

Porównując wyniki eksperymentów CID przeprowadzonych dla kompleksów wanadu(V) zawierających ligand katecholowy oraz dwa ligandy alkoksylowe, można zauważyć, że obserwowane procesy dysocjacji zależą od rodzaju przyłączonych ligandów OR^1 i OR^2 . Jednak w każdym przypadku zastosowanie metody tandemowej spektrometrii mas CID prowadziło do uzyskania szczegółowych informacji na temat struktury badanych kationów jednododatnich. Fragmentacja $[(C_6H_4O_2)V(OCH_3)(OCH_3)]^+$ różni się zasadniczo od procesów obserwowanych dla innych jonów: zaobserwować można utratę rodnika metylowego, CH_2O oraz CH_3OH . Dla tego kompleksu nie zachodzi proces utraty cząsteczki alkeny z większej cząsteczki ligandu alkoksylowego, poprzedzający oderwanie cząsteczki alkoholu R^1OH lub R^2OH jak to ma miejsce w przypadku pozostałych badanych kationów. Fakt, iż jon potomny $[(C_6H_4O_2)VO]^+$ powstaje w procesie fragmentacji CID wszystkich badanych kompleksów, świadczy o tym, że wiązania pomiędzy wanadem(V) a ligandem katecholowym są znacznie silniejsze niż te utworzone pomiędzy metalem a ligandami alkoksylowymi. Zastosowanie w eksperymentach CID wyższych wartości energii skutkowało rozkładem $[(C_6H_4O_2)VO]^+$ i powstaniem VO^+ . W przypadku wszystkich badanych kompleksów typu $[(L)V(OR^1)(OR^2)]^+$ metoda CID dostarcza informacji zarówno

o budowie ligandów: katecholowego i alkoksylowych, jak i sposobie połączenia tych ligandów z centralnym metalem wanadu(V).

Kompleksy wanadu(V) wzbudzają duże zainteresowanie naukowców, nie tylko dlatego, że tworzą się jako produkty przejściowe podczas utleniania alkanów, ale również ze względu na udział w procesie utleniania n-butanu do bezwodnika maleinowego [394, 395]. Większość dotychczas opublikowanych prac dotyczących tych zagadnień opierała się na badaniu w fazie gazowej mechanizmu reakcji utleniania węglowodorów przy udziale tlenków wanadu [396-399]. W opracowaniu przedstawiono wyniki badania za pomocą tandemowej spektrometrii mas CID budowy oraz dysocjacji kompleksów wanadu(V) zawierających jako ligand cząsteczkę kwasów: maleinowego i bursztynowego (kwas 1,4-butanodiowy). Kwasy zbudowane są z łańcuchów o czterech atomach węgla, podobnie jak butan. Wyniki te opublikowano [116]. Opracowanie metody pozwalającej na szczegółową analizę budowy tego typu kompleksów oraz ich dysocjacji jest istotne z technologicznego punktu widzenia, gdyż może przyczynić się do lepszego zrozumienia procesów zachodzących w trakcie produkcji bezwodnika maleinowego, a w konsekwencji – do optymalizacji tego procesu.

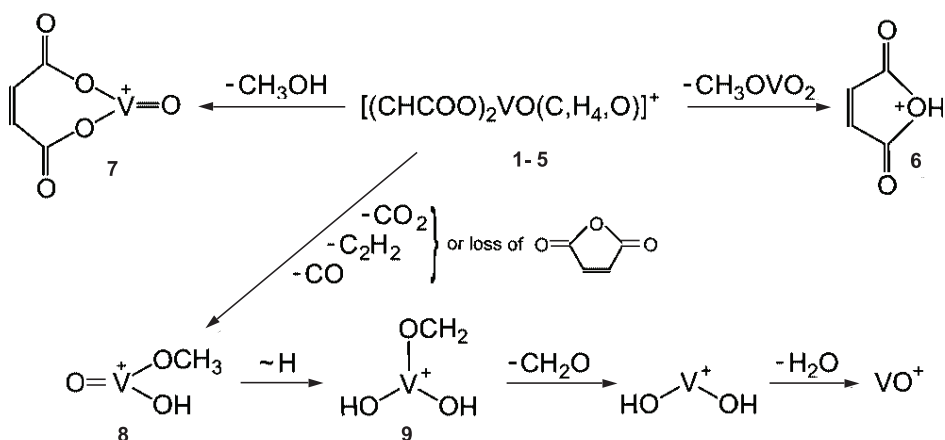
Elektrozroczanie roztworu $\text{OV}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$ w metanolu z niewielkim dodatkiem kwasu maleinowego lub bursztynowego skutkuje powstaniem kompleksów wanadu(V), które zawierają rdzeń VO^+ , pozbawioną dwóch protonów cząsteczkę odpowiedniego kwasu dwukarboksylowego oraz cząsteczkę rozpuszczalnika. Wzór sumaryczny powstających kompleksów można zapisać jako $[(\text{XCOO})_2\text{VO}(\text{C}, \text{H}_4, \text{O})]^+$, gdzie $\text{X} = \text{CH}$ w przypadku kwasu maleinowego oraz CH_2 w przypadku kwasu bursztynowego. Fragment zapisany jako $(\text{C}, \text{H}_4, \text{O})$ pochodzi od cząsteczki rozpuszczalnika. Spektrometria mas nie dostarcza wystarczających informacji dotyczących budowy tego typu kompleksów, na podstawie uzyskanych widm masowych nie można wysnuwać wniosków na temat rozmieszczenia w kompleksie elementów $(\text{C}, \text{H}_4, \text{O})$. Na rysunku 38 przedstawiono prawdopodobne struktury kompleksów zawierających cząsteczkę kwasu maleinowego.



Źródło: [Reproduced with kind permission from John Wiley and Sons from European Journal of Inorganic Chemistry, 2007, 21, 3335-3341 DOI: 10.1002/ejic.200601171, Kaczorowska, M., Schroder, D., Schwarz, H., "Fragmentation of alkoxo(catecholato)vanadium(V) complexes $[(\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_2)\text{V}(\text{OR}^1)(\text{OR}^2)]^+$ in the gas phase." Scheme 1].

Rys. 38. Budowa izomerów kompleksu $[(\text{CHCOO})_2\text{VO}(\text{C}, \text{H}_4, \text{O})]^+$ [116]

Wyniki przeprowadzonych eksperymentów CID tandemowej spektrometrii mas pozwalają na stwierdzenie, które z wymienionych wyżej kompleksów tworzą się w badanym roztworze. Widmo masowe CID wyizolowanego jonu $[(\text{CHCOO})_2\text{VO}(\text{C}, \text{H}_4, \text{O})]^+$ jest zdominowane przez piki które odpowiadają kompleksom powstającym w wyniku utraty cząsteczki CO_2 oraz równoczesnej utraty CO_2 , CO i C_2H_2 . Drugi obserwowany proces sugeruje całkowity rozkład cząsteczki kwasu maleinowego przyłączonego za pomocą dwóch atomów tlenu, pochodzących z grup karboksylowych do centralnego atomu wanadu(V). Alternatywnym procesem dysocjacji może być eliminacja całego bezwodnika maleinowego $\text{C}_4\text{H}_2\text{O}_3$. Za tą drugą możliwością przemawia fakt, że na widmie fragmentacyjnym CID widoczny jest pik odpowiadający protonowanemu bezwodnikowi maleinowemu. Doświadczenie przeprowadzone z zastosowaniem deuterowanego metanolu potwierdza tworzenie się bezwodnika. Rysunek 39 przedstawia mechanizm dysocjacji CID jonu $[(\text{CHCOO})_2\text{VO}(\text{C}, \text{H}_4, \text{O})]^+$. Dane dotyczące obserwowanych procesów utraty obojętnych fragmentów z wyizolowanych jonów $[(\text{CHCOO})_2\text{VO}(\text{C}, \text{H}_4, \text{O})]^+$ i $[(\text{CHCOO})_2\text{VO}(\text{C}, \text{D}_4, \text{O})]^+$ w procesach CID zawarto w tabeli 18.



Źródło: [Reproduced with kind permission from John Wiley and Sons from European Journal of Inorganic Chemistry, 2007, 21, 3335-3341 DOI: 10.1002/ejic.200601171, Kaczorowska, M., Schroder, D., Schwarz, H., "Fragmentation of alkoxo(catecholato)vanadium(V) complexes $[(\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_2)\text{V}(\text{OR}^1)(\text{OR}^2)]^+$ in the gas phase." Scheme 2].

Rys. 39. Mechanizm dysocjacji CID jonu $[(\text{CHCOO})_2\text{VO}(\text{C}, \text{H}_4, \text{O})]^+$ [116]

Dokładna analiza uzyskanych widm masowych CID pozwala na stwierdzenie, że badany kompleks ma strukturę przedstawioną na rysunku 38 jako 2 lub 4. Możliwe jest również, że w trakcie przeprowadzonych doświadczeń w roztworze powstały dwa izomery: 2 i 4. Struktury 2 i 4 zawierają ligand $-\text{OCH}_3$ bezpośrednio połączony z centralnym atomem wanadu(V). Dla układów tego typu zaobserwowano w procesach CID utratę obojętnych cząsteczek CH_2O

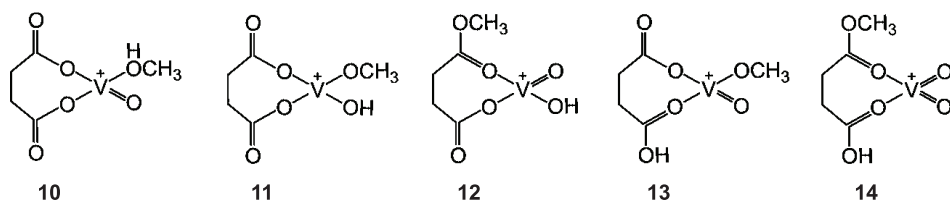
oraz CH₃OH [400-402], nie były to jednak dominujące procesy, analogicznie do prezentowanych obecnie wyników. Gdyby utrata obojętnej cząsteczki metanolu była dominującym procesem fragmentacji badanego kationu, wówczas przemawiałoby to na korzyść kompleksu oznaczonego symbolem 1 na rysunku 38, w którym cząsteczka metanolu jest „luźno” przyłączona do reszty kompleksu i powinna łatwo się od niego odrywać w procesie CID. Biorąc pod uwagę sposób przygotowania roztworów do badań (OV(OC₂H₅)₃/CH₃OH/kwas maleinowy) oraz wyniki przeprowadzonych doświadczeń CID, tworzenie się struktur 3 i 5 jest bardzo mało prawdopodobne.

Tabela 18. Utrata obojętnych fragmentów (różnica mas Δm) w procesie CID kompleksów [(CHCOO)₂VO(C, H₄, O)] + (m/z = 213) i [(CHCOO)₂VO(C, D₄, O)] + (m/z = 217) wygenerowanych poprzez elektrorozpylenie OV(OC₂H₅)₃ z dodatkiem kwasu maleinowego w CH₃OH lub CD₃OD. Wyniki podane w odniesieniu do pików bazowych (100) produktów CID [116]

Δm	-18	-20	-30	-32	-36	-44	-58	-62	-74	-76	-98	-114	-117	-128	-130
213	20		5	13		100	11		19		50	2		6	
217		9		4	10	100		15		20	60		5		3

[Reproduced with kind permission from John Wiley and Sons from European Journal of Inorganic Chemistry, 2007, 21, 3335-3341 DOI: 10.1002/ejic.200601171, Kaczorowska, M., Schroder, D., Schwarz, H., "Fragmentation of alkoxo(catecholato)vanadium(V) complexes [(C₆H₄O₂)V(OR¹)(OR²)]⁺ in the gas phase." Table 1].

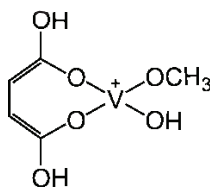
W przypadku zastosowania kwasu bursztynowego określenie struktury kompleksów [(CH₂COO)₂VO(C, H₄, O)]⁺ wyłącznie na podstawie analizy widm masowych MS również jest niemożliwe. Na rysunku 40 przedstawiono wzory najbardziej prawdopodobnych kompleksów. Podobnie jak dla kationów [(CHCOO)₂VO(C, H₄, O)]⁺ przeprowadzenie eksperymentów tandemowej spektrometrii CID oraz analiza uzyskanych widm pozwala na stwierdzenie, jakie kompleksy utworzyły się w badanym roztworze.



Źródło: [Reproduced with kind permission from John Wiley and Sons from European Journal of Inorganic Chemistry, 2007, 21, 3335-3341 DOI: 10.1002/ejic.200601171, Kaczorowska, M., Schroder, D., Schwarz, H., "Fragmentation of alkoxo(catecholato)vanadium(V) complexes [(C₆H₄O₂)V(OR¹)(OR²)]⁺ in the gas phase." Scheme 3].

Rys. 40. Budowa izomerów kompleksu [(CH₂COO)₂VO(C, H₄, O)]⁺ [116]

Najbardziej intensywne sygnały na widmie masowym CID kompleksów wanadu utworzonych w obecności kwasu bursztynowego odpowiadają procesom eliminacji cząsteczki wody ($\Delta m = -18$) oraz jednoczesnej utracie cząsteczki wody i tlenu węgla ($\Delta m = -46$). Jednak w tym drugim przypadku może zachodzić również proces utraty cząsteczki etanolu ($\Delta m = -46$). W celu wyjaśnienia tego procesu przeprowadzono dwa dodatkowe eksperymenty: w pierwszym zastosowano CD_3OD , w drugim – metanol oraz deuterowany kwas bursztynowy, co w wyniku elektrorozpylania odpowiedniego roztworu $OV(OC_2H_5)_3$ prowadziło do powstania odpowiednio jonów $[(CH_2COO)_2VO(C,D_4,O)]^+$ i $[(CD_2COO)_2VO(C,H_4,O)]^+$. Dominujący pik na widmie masowym CID jonu $[(CD_2COO)_2VO(C,H_4,O)]^+$ odpowiada jonowi powstałemu w wyniku oderwania neutralnego fragmentu o masie 48 u od prekursora, co świadczy jednoznacznie o tym, że zachodzi tu proces równoczesnej utraty cząsteczki CO i D_2O . W przypadku fragmentacji CID jonu $[(CH_2COO)_2VO(C,H_4,O)]^+$ utrata H_2O jest procesem „uprzywilejowanym”, co może wiązać się z obecnością w badanym roztworze formy enolowej przedstawionej na rysunku 41. Tabela 19 zawiera informacje o odrywanych obojętnych fragmentach (różnica mas Δm) w procesie CID kompleksów $[(CH_2COO)_2VO(C,H_4,O)]^+$, $[(CD_2COO)_2VO(C,H_4,O)]^+$, $[(CH_2COO)_2VO(C,D_4,O)]^+$ wygenerowanych poprzez elektrorozpylenie $OV(OC_2H_5)_3$ z dodatkiem kwasu bursztynowego lub deuterowanego kwasu bursztynowego w CH_3OH , lub CD_3OD .



15

Źródło: [Reproduced with kind permission from John Wiley and Sons from European Journal of Inorganic Chemistry, 2007, 21, 3335-3341 DOI: 10.1002/ejic.200601171, Kaczorowska, M., Schroder, D., Schwarz, H., "Fragmentation of alkoxo(catecholato)vanadium(V) complexes $[(C_6H_4O_2)V(OR^1)(OR^2)]^+$ in the gas phase." Scheme 4].

Rys. 41. Forma enolowa kompleksu $[(CH_2COO)_2VO(C,H_4,O)]^+$ [116]

Tabela 19. Utrata obojętnych fragmentów (różnica mas Δm) w procesie CID kompleksów **A** $[(CH_2COO)_2VO(C, H_4, O)]^+$, **B** $[(CD_2COO)_2VO(C, H_4, O)]^+$, **C** $[(CH_2COO)_2VO(C, D_4, O)]^+$ wygenerowanych poprzez elektrorozpylenie $OV(OC_2H_5)_3$ z dodatkiem kwasu bursztynowego, lub deuterowanego kwasu bursztynowego w CH_3OH lub CD_3OD . Wyniki zostały podane w odniesieniu do pików bazowych (100) produktów CID [116]

Δm	A	B	C
-18	100		50
-19		46	38
-20		62	
-30	6		
-32	57	8	
-36			5
-46	43		100
-47		69	82
-48		100	
-62	12		21
-63		23	5
-64		31	
-90	14		25
-92		9	
-100	14		38
-101		33	
-103		31	
-104		15	
-114	7	4	
-117			17
-120	1		8
-122		8	
-130	7		
-132			5
-133		4	3
-134			2
-160	28		
-161		23	
-162		15	
-163			27
-164			17

[Reproduced with kind permission from John Wiley and Sons from European Journal of Inorganic Chemistry, 2007, 21, 3335-3341 DOI: 10.1002/ejic.200601171, Kaczorowska, M., Schroder, D., Schwarz, H., "Fragmentation of alkoxo(catecholato)vanadium(V) complexes $[(C_6H_4O_2)V(OR^1)(OR^2)]^+$ in the gas phase." Table 2].

Doświadczenia przeprowadzone przy użyciu kwasu octowego i fumarowego (trans-butenodiowego) wykazały, że ze względu na swoją budowę cząsteczki te nie mogą pełnić funkcji czynnika chelatującego dla atomów wanadu jak w przypadku cząsteczek kwasu maleinowego i bursztynowego. Tworzą się kompleksy typu $[(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{VO}(\text{C}, \text{H}_4, \text{O})]^+$, ale ich dysocjacja CID różni się zasadniczo od procesów opisanych w opracowaniu, natomiast kationy typu $[(\text{trans}(\text{CHCOO})_2)\text{VO}(\text{C}, \text{H}_4, \text{O})]^+$ nie powstają. Metoda tandemowej spektrometrii mas CID pozwala na uzyskanie szczegółowych informacji na temat budowy kompleksów typu $[(\text{XCOO})_2\text{VO}(\text{C}, \text{H}_4, \text{O})]^+$, gdzie $\text{X} = \text{CH}$ lub CH_2 , rodzaju ligandów występujących w kompleksach, jak i sposobu ich powiązania z centralnym atomem wanadu.

Technika CID zastosowana do badania budowy kompleksów wanadu(V): alkoksylowych oraz zawierających cząsteczkę kwasu dikarboksylowego dostarcza informacji zarówno o budowie ligandów, jak i sposobie ich połączenia z centralnym metalem wanadu, pozwala również wnioskować odnośnie trwałości wiązań pomiędzy poszczególnymi ligandami a metalem.

11. PODSUMOWANIE

Wyniki przeprowadzonych badań jasno wykazują, że połączenie metody jonizacji ESI ze spektrometrią masową cyklotronowego rezonansu jonowego z transformacją Fouriera FT-ICR przy właściwym doborze zastosowanych technik fragmentacji staje się doskonałym narzędziem do badania struktury różnych związków chemicznych.

W wielu przypadkach jedynie zastosowanie dwóch różnych metod fragmentacji pozwala na pełne poznanie budowy badanych cząsteczek. Taka sytuacja zachodzi w przypadku analizy cząsteczek dendrymerów PAMAM oraz ich kompleksów z metalami. Metody fragmentacji oparte na oddziaływaniu jon-elektron (ECD, EDD), wykorzystane do badania budowy jonów dendrymerów PAMAM różniących się zarówno liczbą generacji, jak i rodzajem grup powierzchniowych dostarczają informacji na temat budowy wewnętrznych generacji cząsteczek. Liczba generacji związku ma istotny wpływ na obserwowane procesy dysocjacji, które są niezależne od rodzaju grup powierzchniowych. Procesy fragmentacji CID natomiast, oparte na oddziaływaniu badanych jonów z obojętnymi cząsteczkami azotu, przebiegają w zewnętrznych partiach jonów dendrymerów i są bogatym źródłem informacji na temat rodzaju oraz budowy zewnętrznych generacji oraz grup powierzchniowych. W przypadku jonów kompleksów utworzonych przez dendrymer PAMAM trzeciej generacji z jonami metali Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} metody ECD i CID tandemowej spektrometrii mas dostarczają uzupełniających się wzajemnie informacji na temat sposobu oraz miejsca koordynacji kationu metalu w cząsteczce ligandu dendrymeru PAMAM oraz dotyczących budowy samego ligandu. Podobnie analiza wyników doświadczeń CID i ECD przeprowadzonych dla polifosfoestru przedstawionego na rysunku 12 dowodzi, że kombinacja tych dwóch metod tandemowej spektrometrii mas jest bogatym źródłem informacji na temat budowy produktów degradacji polimeru, a w konsekwencji samego polifosfoestru. Wyniki doświadczeń dostarczają uzupełniających się wzajemnie, szczegółowych danych odnośnie struktury PPe. W tym przypadku zasadnicze znaczenie ma również rodzaj wykorzystanego spektrometru masowego. Ze względu na dużą liczbę prawdopodobnych jonów fragmentacyjnych jedynie urządzenie charakteryzujące się wystarczająco dużą rozdzielczością i czułością jak spektrometr FT-ICR pozwala na jednoznaczne przypisanie pikom występującym na widmie MS czy MS/MS odpowiednich jonów.

Metody MS^2 (CID, ECD, IRMPD) i MS^3 (SORI-CID, ECD, IRMPD) mogą z powodzeniem być wykorzystywane do badania budowy i właściwości metalo-supramolekularnych kompleksów. Są one źródłem informacji na temat struktury ligandów kompleksów, w tym przypadku potrójnych/podwójnych helikat, stechiometrii kompleksów oraz sposobu powiązania ligandów z centralnymi jonami metali. Zastosowanie kombinacji tych metod pozwala na uzyskanie pełnych informacji o strukturze związków supramolekularnych. Ponadto technika ECD może być wykorzystywana do wyizolowania wcześniej nieznanymi, meta-

lo-supramolekularnych kompleksów mogących istnieć w fazie gazowej (kompleksów zawierających Fe(I)).

Zaprezentowane w opracowaniu wyniki badania budowy jonów kompleksów $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6]^+$ i $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{HCOO})_6 + \text{H}_2\text{O}]^+$ oraz jednododatnich jonów oktaetyloporfiryny i jej kompleksów z żelazem(III) za pomocą metod tandemowej spektrometrii mas EID i CID dowodzą, że w przypadku tych związków jedynie metoda oparta na oddziaływaniu jon-elektron dostarcza szczegółowych informacji na temat ich budowy. W procesie fragmentacji EID kompleksów żelaza połączonych centralnym atomem tlenu oraz zawierających mostki karboksylowe obserwuje się proces utraty wszystkich kolejnych ligandów octanowych/mrówczanowych oraz tworzenie kationu rdzenia Fe_3O^+ . W przypadku kompleksu $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{HCOO})_6 + \text{H}_2\text{O}]^+$ metoda EID dostarcza również danych na temat ligandu zewnętrznego – zaobserwować można proces oderwania cząsteczki wody od jonu macierzystego. Metoda EID jest źródłem cennych informacji na temat struktury kompleksów $[\text{OEP}]^+$ i $[\text{Fe}(\text{OEP})]^+$; pozwala określić liczbę oraz budowę grup zewnętrznych ($-\text{CH}_2\text{CH}_3$) przyłączonych do pierścienia makrocyclicznego porfiryny. Przeciwnie jest w przypadku wszystkich kompleksów: $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6]^+$, $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{HCOO})_6 + \text{H}_2\text{O}]^+$, $[\text{OEP}]^+$ i $[\text{Fe}(\text{OEP})]^+$, w analizowaniu których metoda CID dostarcza jedynie szczątkowych informacji na temat budowy związków. Wyniki przedstawionych doświadczeń doskonale dowodzą, że wybór metody fragmentacji tandemowej spektrometrii mas ma kluczowe znaczenie w analizie zarówno trójjądrowych kompleksów metali, jak i kompleksów oktaetyloporfiryny. Ponadto duża dokładność oznaczenia masy jonów, jaką charakteryzuje się spektrometr masowy FT-ICR oraz analiza rozkładu izotopowego pików odpowiadających jonom potomnym, nie pozostawia wątpliwości w kwestii budowy tych związków.

Kompleksy wanadu(V) typu: $[(\text{L})\text{V}(\text{OR}^1)(\text{OR}^2)]^+$, gdzie L stanowi ligand katecholowy oraz $[(\text{XCOO})_2\text{VO}(\text{C}, \text{H}_4, \text{O})]^+$, gdzie X = CH lub CH_2 , zostały zbadane za pomocą spektrometru masowego VG BIO-Q przy zastosowaniu metody tandemowej spektrometrii mas CID. Wyniki badań wykazują, że technika CID dostarcza informacji zarówno o budowie ligandów, jak i sposobie połączenia tych ligandów z centralnym metalem wanadu(V). Analiza widm CID pozwala również na wysnucie wniosków w kwestii trwałości wiązań pomiędzy poszczególnymi ligandami a metalem. Mimo iż spektrometr masowy VG BIO-Q charakteryzuje się dużo mniejszą czułością i rozdzielczością niż spektrometr masowy FT-ICR, to odpowiednio zaplanowane doświadczenia tandemowej spektrometrii mas CID (np. powtórzenia eksperymentów, których wyniki budzą wątpliwości przy zastosowaniu wyższych wartości energii kolizji jonów z cząsteczkami gazów obojętnych, wykorzystanie deuterowanych rozpuszczalników) pozwalają na uzyskanie szczegółowych informacji na temat budowy tego typu związków.

Przedstawione w opracowaniu przykłady badania budowy związków chemicznych o bardzo różnym stopniu złożoności, zawierających różne grupy funkcyjne (np. dendrymery, polimery, porfiryny czy stosunkowo proste kom-

pleksy wanadu), mających ogromne znaczenie w wielu dziedzinach (medycynie, biochemii, biotechnologii, katalizie) za pomocą metod tandemowej spektrometrii mas zarówno tradycyjnych (CID), jak i nowoczesnych, opartych na oddziaływaniu jon-elektron (ECD, EID, EDD) udawadniają ogromne, potencjalne możliwości zastosowania metod MS/MS w analizie strukturalnej tych związków. Zasadnicze znaczenie ma jednak dobór właściwej dla danej grupy związków chemicznych metody fragmentacji oraz odpowiednie planowanie eksperymentów tandemowej spektrometrii mas.

LITERATURA

- [1] McLafferty F.W., 1983. Tandem mass spectrometry. John Wiley New York.
- [2] Busch K.L., Glish G.L., McLuckey S.A., 1988. Mass spectrometry/mass spectrometry: Techniques and applications of tandem mass spectrometry. VCH Verlagsgesellschaft Weinheim, Basel, Cambridge, New York.
- [3] Nibbering N.M.M., 2006. Four decades of joy in mass spectrometry. *Mass Spectrom. Rev.* 25, 962.
- [4] Armentrout P.B., 2002. Mass spectrometry – not just a structural tool: the use of guided ion beam tandem mass spectrometry to determine thermochemistry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 13, 419.
- [5] Chait E.M., 1972. Ionization sources in mass spectrometry. *Anal. Chem.* 44, 77A-91a.
- [6] Meuzelaar H.L.C., Posthumus M.A., Kistemaker P.G., Kistemaker J., 1973. Curie point pyrolysis in direct combination with low voltage electron impact ionization mass spectrometry. New method for the analysis of nonvolatile organic materials. *Anal. Chem.* 45, 1546.
- [7] Danikiewicz W., Wojciechowski K., Fokkens R.H., Nibbering N.M.M., 1993. On the mechanisms of electron-impact-induced sulfur dioxide elimination from the molecular ions of 4-nitro- and 6-nitro-2,1-benzisothiazoline 2,2-dioxide derivatives. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 7, 763.
- [8] Bogdanov B., Matimba H.E.K., Ingemann S., Nibbering N.M.M., 1998. Chemical ionization of fluorophenyl n-propyl ethers: Loss of propene from the metastable $[M+D]^+$ ions. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 9, 121.
- [9] Bogdanov B., Matimba H.E.K., Ingemann S., Nibbering N.M.M., 1996. Chemical ionization of phenyl n-propyl ether and methyl substituted analogs: Propene loss initiated by competing proton transfer to the oxygen atom and the aromatic ring. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 7, 639.
- [10] Harrison A.G., 1992. Chemical Ionization Mass Spectrometry. CRC: Boca Raton.
- [11] Van Beelen E.S.E., Molenaar-Langeveld T.A., Ingemann S., 2003. A chemical ionization study of deuterium transfer initiated propene loss from propoxypyridines. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 14, 1166.
- [12] M. Glückmann, M. Schäfer, J., 2000. Ionization in matrix-assisted laser desorption/ionization: singly charged molecular ions are the lucky survivors. *J. Mass Spectrom.* 35, 1.
- [13] Cohen L.H., Gusev A.I., 2002. Small Molecule Analysis by MALDI Mass Spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 373, 571.
- [14] Soltzberg L.J., Hagar A., Kridaratikorn S., Mattson A., Newman R., 2007. MALDI-TOF Mass Spectrometric Identification of Dyes and Pigments. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 18, 2001.

- [15] Nielen M.W.F., 1999. MALDI time-of-flight mass spectrometry of synthetic polymers. *Mass Spectrom. Rev.* 18, 309.
- [16] Zenobi R., Knochenmuss R., 1998. Ion formation in MALDI Mass Spectrometry. *Mass Spectrom. Rev.* 17, 337.
- [17] Cohen S.L., Chait B.T., 1996. Influence of matrix solution conditions on the MALDI-MS analysis of peptides and proteins. *Anal. Chem.* 68, 31.
- [18] Castro J.A., Köster C., Wilkins C., 1992. Matrix-assisted laser desorption/ionization of high-mass molecules by Fourier-transform mass spectrometry. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 6, 239.
- [19] Wei J., Buriak J.M., Siuzdak G., 1999. Desorption-ionization mass spectrometry on porous silicon. *Nature* 399, 243.
- [20] Thomas J.J., Shen Z., Blackledge R., Siuzdak G., 2001. Desorption-ionization on silicon mass spectrometry: an application in forensics. *Anal. Chimica Acta.* 442, 183.
- [21] Lewis W.G., Shen Z., Finn M.G., Siuzdak G., 2003. Desorption/ionization on silicon (DIOS) mass spectrometry: background and applications. *Int. J. Mass Spectrom.* 226, 107.
- [22] Karas M., Hillenkamp F., 1988. Laser Desorption-Ionization of Proteins with Molecular Masses Exceeding 10000 dalton S. *Anal. Chem.* 60, 2299.
- [23] Budimir N., Blais J-C., Fournier F., Tabet J-C., 2006. The use of desorption/ionization on porous silicon mass spectrometry for the detection of negative ions for fatty acids. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 20, 680.
- [24] Budimir N., Blais J.C., Fournier F., Tabet J.C., 2007. Desorption/ionization on porous silicon mass spectrometry (DIOS) of model cationized fatty acids. *J. Mass Spectrom.* 42, 42.
- [25] Merchant M., Weinberger S.R., 2000. Recent advancements in surface-enhanced laser desorption/ionization-time of flight-mass spectrometry. *Electrophoresis.* 21, 1164.
- [26] Issaq H.J., Veenstra T.D., Conrads T.P., Felschow D., 2002. The SELDI-TOF MS Approach to Proteomics: Protein Profiling and Biomarker Identification. *Biochem. Biophys. Research Comm.* 292, 587.
- [27] Tang N., Tornatore P., Weinberger S.R., 2004. Current developments in SELDI affinity technology. *Mass Spectrom. Rev.* 23, 34.
- [28] von Neuhoff N., Kaiser T., Wittke S., Krebs R., Pitt A., Burchard A., Sundmacher A., Schlegelberger B., Kolch W., Mischak H., 2004. Mass spectrometry for the detection of differentially expressed proteins: a comparison of surface-enhanced laser desorption/ionization and capillary electrophoresis/mass spectrometry. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 18, 149.
- [29] Carlson S.M., Najmi A., Whitin J.C., Cohen Dr. H.J., 2005. Improving feature detection and analysis of surface-enhanced laser desorption/ionization-time of flight mass spectra. *Proteomics.* 5, 2778.

- [30] Fenn J.B., Mann M., Meng C.K., Wong S.F., Whitehouse C.M., 1989. Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules. *Science*. 246, 64.
- [31] Mann M., Meng Ch.K., Fenn J.B., 1989. Interpreting of mass spectra of multiply charged ions. *Anal. Chem.* 61, 1702.
- [32] Ifa D.R., Wu Ch., Ouyang Z., Cooks R.G., 2010. Desorption electrospray ionization and other ambient ionization methods: current progress and preview. *Analyst*. 135, 669.
- [33] Cech N.B., Enke C.G., 2001. Practical implications of some recent studies in electrospray ionization fundamentals. *Mass Spectrom. Rev.* 20, 362.
- [34] Sherman N.E., Kinter M., 2000. Protein sequencing and identification using tandem mass spectrometry. John Wiley New York.
- [35] Fenn J.B., Mann M., Meng C.K., Wong S.F., Whitehouse C.M., 1990. Electrospray ionization – principles and practice. *Mass Spectrom. Rev.* 9, 37.
- [36] Cole R., Editor 1997. *Electrospray Ionization Mass Spectrometry. Fundamentals, Instrumentation and Applications*. Wiley and Sons New York.
- [37] Smith R.D., Loo J.A., Ogorzalek Loo R.R., Busman M., Udseth H.R., 1991. Principles and practice of electrospray ionization – mass spectrometry for large polypeptides and proteins. *Mass Spectrom. Rev.* 10, 359.
- [38] Marshall A.G., Hendrickson C.L., Jackson G.S., 1998. Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry: a primer. *Mass Spectrom. Rev.* 17, 1.
- [39] Marshall A.G., Schweikhard L., 1992. Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry: technique developments. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes.* 118/119, 37.
- [40] Buchanan M.V., Hettich R.L., 1993. Fourier transform mass spectrometry of high-mass biomolecules. *Anal. Chem.* 65, 245.
- [41] Wilkins C.L. (Ed.), 1994. *Trends in Analyt. Chem.*, 13, Special Issue: Fourier Transform Mass Spectrometry. 223.
- [42] Allemann M., Kellerhals H., Wanczek K.P., 1983. High magnetic field Fourier Transform Ion Cyclotron resonance Spectroscopy. *Int. J. Mass Spectrom Ion Process.* 46, 139.
- [43] Comisaró M.B., Marshall A.G., 1974. Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Spectroscopy. *Chem. Phys. Lett.* 25, 282.
- [44] Senko W.M., Hendrickson L., Pasa-Tolic L., Marto J.A., White F.M., Guan S., Marshall A.G., 1996. Electrospray ionization Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance at 9.4 T. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 19, 1824.
- [45] Chen R.D., Cheng X.H., Mitchell D. W., Hofstadler S.A., Wu Q.Y., Rockwood A.L., Sherman M.G., Smith R.D., 1995. Trapping, detection and mass determination of coliphage T4 DNA ions of 10(8) Da by electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry *Anal. Chem.* 67, 1159.

- [46] Kelleher N.L., Senko M.W., Little D.P., O'Connor P.B., McLafferty F.W., 1995. Complete Large-Molecule High-Resolution Mass Spectra from 50 Femtomole Microvolume Injection. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 6, 220.
- [47] Henry K.D., Quinn J.P., McLafferty F.W., 1991. High-resolution electrospray mass spectra of large molecules. *J. Am. Chem. Soc.* 113, 5447.
- [48] Hofstadler S.A., Swanek F.D., Gale D.C., Ewing A.G., Smith R.D., 1995. Capillary Electrophoresis-Electrospray Ionization Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry for Direct Analysis of Cellular Proteins. *Anal. Chem.* 67, 1477.
- [49] Valaskovic G.A., Kelleher N.L., Little D.P., Aaserud D.J., McLafferty F.W., 1995. Attomole-Sensitivity Electrospray Source for Large-Molecule Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 67, 3802.
- [50] Henry K.D., Williams E.R., Wang B-H., McLafferty F.W., Shabanowitz J., Hunt D.F., 1989. FTMS of large molecules by ESI. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 86, 9075.
- [51] Hendrickson C.L., Emmett M.R., 1999. Electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Annu. Rev. Phys. Chem.* 50, 517.
- [52] Lorenz S.A., Maziarz E.P.I., Wood T.D., 1999. Electrospray ionization Fourier transform mass spectrometry of macromolecules: The first decade. *Appl. Spectrosc.* 53, 18.
- [53] McLafferty F.W., 1994. High-resolution tandem FT mass spectrometry above 10 kDa. *Acc. Chem. Res.* 27, 379.
- [54] Winger B.E., Hofstadler S.A., Bruce J.E., Udseth H.R., Smith R.D., 1993. High-resolution accurate mass measurements of biomolecules using a new electrospray ionization ion cyclotron resonance mass spectrometer. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 4, 566.
- [55] Little D.P., Chorush R.A., Speir J.P., Senko M.W., Kelleher N.L., McLafferty F.W., 1994. Rapid Sequencing of Oligonucleotides by High-Resolution Mass Spectrometry. *J. Am. Chem. Soc.* 116, 4893.
- [56] Beu S.C., Senko M.W., Quinn J.P., Wampler F.M., McLafferty F.W., 1993. Fourier-transform electrospray instrumentation for tandem high-resolution mass spectrometry of large molecules. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 4, 557.
- [57] Speir J.P., Senko M.W., Little D.P., Loo J.A., McLafferty F.W., 1995. High-resolution tandem mass spectra of 37-67 kDa proteins. *J. Mass Spectrom.* 30, 39.
- [58] Kelleher N.L., Costello C.A., Begley T.P., McLafferty F.W., 1995. Thiaminase I (42 kDa) heterogeneity, sequence refinement, and active site location from high-resolution tandem mass spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 6, 981.
- [59] Wu Q., Van Orden S., Cheng X., Bakhtiar R., Smith R.D., 1995. Characterization of cytochrome c variants with high-resolution FTICR mass

- spectrometry: correlation of fragmentation and structure. *Anal. Chem.* 67, 2498.
- [60] Senko M.W., Beu S.C., McLafferty F.W., 1994. Collisional activation of large multiply charged ions using Fourier transform mass spectrometry. *Anal. Chem.* 66, 415.
 - [61] Jennings K.R., 1968. Collision-induced Decompositions of Aromatic Molecular Ions. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.* 1, 227.
 - [62] Cooks R.G., (ED), 1978. *Collision Spectroscopy*. Plenum Press New York.
 - [63] Haddon W.F., McLafferty F.W., 1968. Metastable Ion Characteristics. VII. Collision Induced Metastables. *J. Am. Chem. Soc.* 90, 4745.
 - [64] Shukla A., Futrell J.H., 2000. Tandem mass spectrometry: dissociation of ions by collisional activation. *J. Mass Spectrom.* 35, 1069.
 - [65] De Hoffman E., Stroobant V., 2001. *Mass Spectrometry: Principles and Applications*, second edition. John Wiley and Sons.
 - [66] Leymarie N.M., Berg E.A., McComb M.E., O'Connor P.B., Grogan J., Oppenheim F.G., Costello C.E., 2002. Tandem MS for structural characterization of proline rich proteins: Application to salivary PRP-3. *Anal. Chem.* 74, 4124.
 - [67] Cooper H.J., Hakansson K., Marshall A.G., 2005. The role of electron capture dissociation in biomolecular analysis. *Mass Spectrom. Rev.* 24, 201.
 - [68] Zubarev R.A., Kelleher N.L., McLafferty F.W., 1998. Electron capture dissociation of multiply charged protein cations. A nonergodic process. *J. Am. Chem. Soc.* 120, 3265.
 - [69] Kelleher N.L., Zubarev R.A., Bush K., Furie B., Furie B.C., McLafferty F.W., Walsh C.T., 1999. Localization of labile posttranslational modifications by ECD: The case of gamma-carboxyglutamic acid. *Anal. Chem.* 71, 4250.
 - [70] Mirgorodskaya E., Roepstorff P., Zubarev R.A., 1999. Localization of Oglycosylation sites in peptides by ECD in a Fourier transform mass spectrometer. *Anal. Chem.* 71, 4431.
 - [71] Stensballe A., Jensen O.N., Olsen J.V., Haselmann K.F., Zubarev R.A., 2000. ECD of singly and multiply phosphorylated peptides. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 14, 1793.
 - [72] Shi S. D-H., Hemling M.E., Carr S.A., Horn D.M., Lindh I., McLafferty F.W., 2001. Phosphopeptide/phosphoprotein mapping by ECD mass spectrometry. *Anal. Chem.* 73, 19.
 - [73] Guan Z., Yates N.A., Bakhtiar R., 2003. Detection and characterization of methionine oxidation in peptides by CID and ECD. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 14, 605.
 - [74] Guan Z., 2002. Identification and localization of the fatty acid modification in ghrelin by ECD. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 13, 1443.

- [75] Cerda B.A., Horn D.M., Breuker K., McLafferty F.W., 2002. Sequencing of specific copolymer oligomers by electron-capture-dissociation mass spectrometry. *J. Am. Chem. Soc.* 124, 9287.
- [76] Cerda B.A., Horn D.M., Breuker K., Carpenter B.K., McLafferty F.W., 1999. Electron capture dissociation of multiply-charged oxygenated cations. A nonergodic process. *European Mass Spectrom.* 5, 335.
- [77] Cerda B.A., Breuker K., Horn D.M., McLafferty F.W., 2001. Charge/radical site initiation versus coulombic repulsion for cleavage of multiply charged ions. Charge solvation in poly(alkene glycol) ions. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 12, 565.
- [78] Kjeldsen F., Haselmann K.F., Budnik B.A., Jensen F., Zubarev R.A., 2002. Dissociative capture of hot (3-13 eV) electrons by polypeptide polycations: an efficient process accompanied by secondary fragmentation. *Chem. Phys. Lett.* 356, 201.
- [79] Budnik B.A., Haselmann K.F., Zubarev R.A., 2001. Electron detachment dissociation of peptide di-anions: an electron-hole recombination phenomenon. *Chem. Phys. Lett.* 342, 299.
- [80] Cody R.B., Freiser B.S., 1979. Electron-impact excitation of ions from organics – An alternative to collision-induced dissociation. *Anal. Chem.* 51, 547.
- [81] Nielsen M.L., Budnik B.A., Haselmann K.F., Olsen J.V., Zubarev R.A., Intramolecular hydrogen atom transfer in hydrogen deficient polypeptide radical cations. *Chem. Phys. Lett.*, 2000, 330, 558.
- [82] Fung Y.M.E., Adams C.M., Zubarev R.A., 2009. Electron ionization dissociation of singly and multiply charged peptides. *J. Am. Chem. Soc.* 131, 9977.
- [83] Lioe H., O'Hair R.A.J., 2007. Comparison of collision-induced dissociation and electron-induced dissociation of singly protonated aromatic amino acids, cystine and related simple peptides using a hybrid linear ion trap-FT-ICR mass spectrometer. *Anal. Bioanal. Chem.* 389, 1429.
- [84] de Koning L.J., Nibbering N.M.M., van Orden S.L., Laukien F.H., Mass 1997. selection of ions in a Fourier transform ion cyclotron resonance trap using correlated harmonic excitation fields (CHEF). *Int. J. Mass Spectrom.* 165, 209.
- [85] Marshall A.G., 2000. Milestones in Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry technique development. *Int. J. Mass Spectrom.* 200, 331.
- [86] Woodlin R.L., Bomse D.S., Beauchamp J.L., 1978. Multiphoton dissociation of molecules with low power continuous wave infrared laser radiation. *J. Am. Chem. Soc.* 100, 3248.
- [87] Little D.P., Speir J.P., Senko M.W., O'Connor P.B., McLafferty F.W., 1994. Infrared multiphoton dissociation of large multiply charged ions for biomolecule sequencing. *Anal. Chem.* 66, 2809.

- [88] Flora J.W., Muddiman D.C., 2001. Selective, sensitive, and rapid phosphopeptide identification in enzymatic digests using ESI-FTICR-MS with infrared multiphoton dissociation. *Anal. Chem.* 73, 3305.
- [89] Price W.D., Schnier P.D., Williams E.R., 1996. Tandem mass spectrometry of large biomolecule ions by blackbody infrared radiative dissociation. *Anal. Chem.* 68, 859.
- [90] Dunbar R.C., McMahon T.B., 1998. Activation of unimolecular reactions by ambient blackbody radiation. *Science*. 279, 194.
- [91] McCormack A.L., Jones J.L., Wysocki V.H., 1992. Surface-induced dissociation of multiply protonated peptides., *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.* 3, 859.
- [92] Chorush R.A., Little D.P., Beu S.C., Wood T.D., McLafferty F.W., 1995. Surface induced dissociation of multiply protonated proteins. *Anal. Chem.* 67, 1042.
- [93] Gauthier J.W., Trautman T.R., Jacobson D.B., 1991. Sustained off-resonance irradiation for CAD involving FTMS. CAD technique that emulates infrared multiphoton dissociation. *Anal. Chim. Acta.* 246, 211.
- [94] Guo X., Duursma M.C., Al-Khalili A., Heeren R. M.A., 2003. Experimental calibration of the SORI-CID internal energy scale: energy uptake and loss. *Int. J. Mass Spectrom.* 225, 71.
- [95] Håkansson K., Emmett M.R., Hendrickson C.L., Marshall A.G., 2001. High-Sensitivity Electron Capture Dissociation Tandem FTICR Mass Spectrometry of Microelectrosprayed Peptides. *Anal. Chem.* 73, 3605.
- [96] Horn D.M., Ge Y., McLafferty F.W., 2000. Activated ion electron capture dissociation for mass spectral sequencing of larger (42 kDa) proteins. *Anal. Chem.* 72, 4778.
- [97] Shen Y., Tolić N., Zhao R., Paša-Tolić L., Li L., Berger S.C., Harkewicz R., Anderson G.A., Belov M.A., Smith R.D., 2001. High-Throughput Proteomics Using High-Efficiency Multiple-Capillary Liquid Chromatography with On-Line High-Performance ESI FTICR Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 73, 3011.
- [98] Belov M.B., Anderson G.A., Wingerd M.A., Udseth H.R., Tang K., Prior D.C., Swanson K.R., Buschbach M.A., Strittmatter E.F., Moore R.J., Smith R.D., 2004. An Automated High Performance Capillary Liquid Chromatography-Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometer for High-Throughput Proteomics. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 15, 212.
- [99] Shen Y., Zhao R., Belov M.E., Conrads T.P., Anderson G.A., Tang K., Paša-Tolić L., Veenstra T.D., Lipton M.S., Udseth H.R., Smith R.D., 2001. Packed Capillary Reversed-Phase Liquid Chromatography with High-Performance Electrospray Ionization Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry for Proteomics. *Anal. Chem.* 73, 1766.

- [100] Nilsson S., Ramström M., Palmblad M., Axelsson O., Bergquist J., 2004. Explorative Study of the Protein Composition of Amniotic Fluid by Liquid Chromatography Electrospray Ionization Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry. *J. Proteome Research*. 3, 884.
- [101] Ihling C., Berger K., Höfliger M.M., Führer D., Beck-Sickinger A.G., Sinz A., 2003. Nano-high-performance liquid chromatography in combination with nano-electrospray ionization Fourier transform ion-cyclotron resonance mass spectrometry for proteome analysis. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 17, 1240.
- [102] Aebersold R., Mann M., 2003. Mass spectrometry-based proteomics. *Nature*. 422, 198.
- [103] Bergquist J., 2003. FTICR mass spectrometry in proteomics. *Curr. Opin. Mol. Therap.* 5, 310.
- [104] Dienes T., Pastor S.J., Schürch S., Scott J.R., Yao J., Cui S., Wilkins C.L., 1996. Fourier transform mass spectrometry – advancing years (1992-mid. 1996). *Mass Spectrom. Rev.* 15, 163.
- [105] Smith R.D., 2000. Evolution of ESI-mass spectrometry and Fourier transform ion cyclotron resonance for proteomics and other biological applications. *Int. Mass Spectrom.* 200, 509.
- [106] Heeren R.M.A., Kleinnijenhuis A.J., McDonnell L.A., Mize T.H., 2004. A mini-review of mass spectrometry using high-performance FTICR-MS methods. *Anal. Bioanal. Chem.* 378, 1048.
- [107] Hughey C.A., Rodgers R.P., Marshall A.G., 2002. Resolution of 11 000 compositionally distinct components in a single Electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrum of crude oil. *Anal. Chem.* 74, 4145.
- [108] Weidner S.M., Trimpin S. 2010. Mass spectrometry of synthetic polymers. *Anal. Chem.* 82, 4811.
- [109] Kaczorowska M., Cooper H.J., 2008. Electron Capture Dissociation, Electron Detachment Dissociation, and Collision-Induced Dissociation of Polyamidoamine (PAMAM) Dendrimer Ions with Amino, Amidoethanol, and Sodium Carboxylate Surface Groups. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 19, 1312.
- [110] Kaczorowska M.A., Cooper H.J., 2009. Electron Capture Dissociation and Collision-Induced Dissociation of Metal Ion (Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , and Fe^{3+}) Complexes of Polyamidoamine (PAMAM) Dendrimers. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 20, 674.
- [111] Kaczorowska M.A., Cooper H.J., 2009. Characterization of Polyphosphoesters by Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 20, 2238.
- [112] Kaczorowska M.A., Cooper H.J., 2010. Electron Induced Dissociation: A mass spectrometry technique for the structural analysis of Trinuclear Oxo-Centred Carboxylate-Bridged iron complexes. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 21, 1398.

- [113] Kaczorowska M.A., Cooper H.J., 2011. Electron induced dissociation (EID) tandem mass spectrometry of octaethylporphyrin and its iron (III) complex. *Chem. Commun.* 47, 418.
- [114] Kaczorowska M.A., Hotze A.C.G., Hannon M.J., Cooper H.J., 2010. Electron Capture Dissociation Mass Spectrometry of Metallo-Supramolecular Complexes. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 21, 300.
- [115] Kaczorowska M., Schroder D., Schwarz H., 2005. Fragmentation of alkoxo(catecholato)vanadium(V) complexes $[(C_6H_4O_2)V(OR_1)(OR_2)](+)$ in the gas phase. *Europ. J. Inorg. Chem.* 14, 2919.
- [116] Kaczorowska M., Schwarz H., Schroder D., 2007. Gas-phase fragmentation behaviour of vanadium(V) complexes containing one molecule of a C-4-dicarboxylic acid. *Europ. J. Inorg. Chem.* 21, 3335.
- [117] Hannon M.J., Painting C.L., Jackson A.J., Hamblin J., Errington W., 1997. An Inexpensive Approach to Supramolecular Architecture. *Chem. Commun.* 1807.
- [118] Tomalia D.A., Kaplan D.A., Kruper W.J. Jr., Cheng R.C., Tompkinson I.A., Fazio M.J., Edwards D.S., 1994. U.S. Patent 5 728 461.
- [119] Tomalia D.A., Baker H., Dewald J., Hall M., Kallos G., Martin S., Roeck J., Ryder J., Smith P., 1985. A New Class of Polymers: Starburst Dendritic Macromolecules. *Polym. J.* 17, 117.
- [120] Tomalia D.A., Esfand R., 1997. Dendrons, Dendrimers and Dendigrfts. *Chem. Ind.* 11, 416.
- [121] Esfand R., Tomalia D.A., 2001. Poly(amidoamine) (PAMAM) Dendrimers: From Biomimicry to Drug Delivery and Biomedical Applications. *Drug Disc. Today.* 6, 427.
- [122] Boas U., Heegaard P.M.H., 2004. Dendrimers in Drug Research. *Chem. Soc. Rev.* 33, 43.
- [123] Svenson S., Tomalia D.A., 2005. Commentary: Dendrimers in Biomedical Applications – Reflections on the Field. *Adv. Drug Del. Rev.* 57, 2106.
- [124] Tomalia D.A., Reyna L.A., Svenson S., 2007. Dendrimers as Multi-Purpose Nanodevices for Oncology Drug Delivery and Diagnostic Imaging. *Biochem. Soc. Trans.* 35, 61.
- [125] Bosman A. W., Janssen H.M., Meijer E.W., 1999. About dendrimers: Structure, physical properties, and applications. *Chem. Rev.* 99, 1665.
- [126] Astruc D., Chardac F., 2001. Dendric Catalysts and Dendrimers in Catalysis. *Chem. Rev.* 101, 2991.
- [127] Reek J.N.H., Arevalo S., Van Heerbeek R., Kamer P.C.J., Van Leeuwen P.W.N.M., 2006. Dendrimers in Catalysis. *Adv. Catalysis.* 49, 71.
- [128] Zhao M.Q., Sun L., Crooks R.M., 1998. Preparation of Cu Nanoclusters within Dendrimer Templates. *J. Am. Chem. Soc.* 120, 4877.
- [129] Vohs J.K., Fahlman B.D., 2007. Advances in the Controlled Growth of Nanoclusters Using a Dendritic Architecture. *New J. Chem.* 31, 1041.

- [130] Zhang Y.W., Peng H.S., Huang W., Zhou Y.F., Zhang X.H., Yan D.Y., 2008. Hyperbranched Poly(Amidoamine) as the Stabilizer and Reductant to Prepare Colloid Silver Nanoparticles In Situ and Their Antibacterial Activity. *J. Phys. Chem. C* 112, 2330.
- [131] Esumi K., Isono R., Yoshimura T., 2004. Preparation of PAMAM and PPI-metal (Silver, Platinum, and Palladium) Nanocomposites and Their Catalytic Activities for Reduction of 4-Nitrophenol. *Langmuir* 20, 237.
- [132] Balogh L., Tomalia D.A., 1998. Poly(Amidoamine) Dendrimer-Templated Nanocomposites. 1. Synthesis of Zero-Valent Copper Nanoclusters. *J. Am. Chem. Soc.* 120, 7355.
- [133] Caminade A.-M., Laurent R., Majoral J.-P., 2005. Characterization of Dendrimers. *Adv. Drug Del. Rev.* 57, 2130.
- [134] Tolic L.P., Anderson G.A., Smith R.D., Brothers H.M., Spindler R., Tomalia D.A., 1997. ESI FT-ICR Mass Spectrometric Characterization of High Molecular Mass Starburst Dendrimers. *Int. J. Mass Spectrom.* 165, 405.
- [135] Muller R., Laschober C., Szymanski W.W., Allmaier G., 2007. Determination of Molecular Weight, Particle Size, and Density of High Number Generation PAMAM Dendrimers Using MALDI-TOF-MS and nESGEMMA. *Macromolecules* 40, 5599.
- [136] Zhou L., Russell D.H., Zhao M., Crooks R.M., 2001. Characterization of PAMAM Dendrimers and Their Complexes with Cu^{2+} by MALDI Mass Spectrometry. *Macromolecules* 34, 3567.
- [137] Kallos G.J., Tomalia D.A., Hedstrand D.M., Lewis S., Zhou J., 1991. Molecular weight determination of a polyamidoamine Starburst polymer by electrospray ionization mass spectrometry. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 5, 383.
- [138] Giordanengo R., Mazarin M., Wu J., Peng L., Charles L., 2007. Propagation of Structural Deviations of PAMAM Fan-Shape Dendrimers (Generations 0-3) Characterized by MALDI and Electrospray Mass Spectrometry. *Int. J. Mass Spectrom.* 266, 62.
- [139] Peterson J., Allikmaa V., Subbi J., Pehk T., Lopp M., 2003. Structural Deviations in PAMAM Dendrimers: A MALDI-TOF-MS Analysis. *Eur. Polym. J.* 39, 33.
- [140] Subbi J., Aguraiuja R., Tanner R., Allikmaa V., Lopp M., 2005. Fragmentation of PAMAM Dendrimers in MALDI. *Eur. Polym. J.* 41, 2552.
- [141] Mazzitelli C.L., Brodbelt J.S., 2006. Investigation of Silver-Binding to PAMAM Dendrimers by ESI Tandem Mass Spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 17, 676.
- [142] He M., McLuckey S.A., 2004. Tandem Mass Spectrometry of Half Generation PAMAM Dendrimer Anions. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 18, 960.
- [143] Lee S., Han S.Y., Lee T.G., Chung G., Lee D., Oh H.B., 2006. Observation of Pronounced b-Dot, 1y Cleavages in the ECD Mass Spectrometry

- of PAMAM Dendrimer Ions with Amide Functionalities. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 17, 536.
- [144] Neta P., Pu Q.-L., Kilpatrick L., Yang X., Stein S.E., 2006. Dehydration versus Deamination of N-Terminal Glutamine in CID of Protonated Peptides. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 18, 27.
- [145] Diallo M.S., Balogh L., Shafagati A., Johnson J.H., Goddard W.A., Tomalia D.A., 1999. Poly(Amidoamine) Dendrimers: A New Class of High Capacity Chelating Agents for Cu(II) Ions. *Environ. Sci. Technol.* 33, 820.
- [146] Diallo M.S., Arasho W., Johnson J.H., Goddard W.A., 2008. Dendritic Chelating agents. 2. U(VI) binding to poly(amidoamine) and poly(propyleneimine) dendrimers in aqueous solutions. *Environ. Sci. Technol.* 42, 1572.
- [147] Ottaviani M.F., Valluzzi R., Balogh L., 2002. Internal structure of silver-poly(amidoamine) dendrimer complexes and nanocomposites. *Macromolecules.* 35, 5105.
- [148] Hoffman L.W., Andersson G.G., Sharma A., Clarke S.R., Voelcker N.H., 2011. New Insights into the Structure of PAMAM Dendrimer/Gold Nanoparticle Nanocomposites. *Langmuir.* 27, 6759.
- [149] Mankbadi M.R., Barakat M.A., Ramadan M.H., Woodcock H.L., Kuhn J.N., 2011. Iron Chelation by Polyamidoamine Dendrimers: A Second-Order Kinetic Model for Metal-Amine Complexation. *J. Phys. Chem. B.* 115, 13534.
- [150] Balzani V., Campagna S., Denti G., Juris A., Serroni S. Venturi M., 1998. Designing dendrimers based on transition metal complexes. Light-harvesting properties and predetermined redox patterns. *Acc. Chem. Res.* 31, 26.
- [151] Scott R.W.J., Wilson O.M., Crooks R.M., 2005. Synthesis, characterization, and applications of dendrimer-encapsulated nanoparticles. *J. Phys. Chem. B.* 109, 692.
- [152] Lesniak W., Bielinska A.U., Sun K., Janczak K.W., Shi X.Y., Baker J.R., Balogh L.P., 2005. Silver/dendrimer nanocomposites as biomarkers: Fabrication, characterization, in vitro toxicity, and intracellular detection., *Nano Lett.* 5, 2123.
- [153] Balogh L., Valluzzi R., Laverdure K.S., Gido S.P., Hagnauer G.L., Tomalia D.A., 1999. Formation of silver and gold dendrimer nanocomposites. *J. Nanoparticle Research.* 1, 353.
- [154] Li G., Luo Y.N., 2008. Preparation and characterization of dendrimer-templated Ag-Cu bimetallic nanoclusters. *Inorg. Chem.* 47, 360.
- [155] Balogh L., Tomalia D. A., Hagnauer G. L., 2000. A Revolution of Nanoscale Proportions. *Chem. Innovation.* 30, 19.
- [156] Zhao M.Q., Crooks R.M., 1999. Intradendrimer exchange of metal nanoparticles. *Chem. Mater.* 11, 3379.

- [157] Tarazona-Vasquez F., Balbuena P.B., 2004. Complexation of the Lowest Generation Poly(Amidoamine)-NH₂ Dendrimers with Metal Ions, Metal Atoms, and Cu(II) Hydrates: An Ab Initio Study. *J. Phys. Chem. B.* 108, 15992.
- [158] Schalley C.A., Baytekin B., Baytekin H.T., Engeser M., Felder T., Rang A., 2006. Mass Spectrometry as a Tool in Dendrimer Chemistry: From Self-Assembling Dendrimers to Dendrimer Gas-Phase Host-Guest chemistry. *J. Phys. Org. Chem.* 19, 479.
- [159] Baytekin B.B., Werner N., Luppertz F., Engeser M., Bruggemann J., Bitter S., Henkel R., Felder T., Schalley C.A., 2006. How useful is mass spectrometry for the characterization of dendrimers? Fake defects in the ESI and MALDI mass spectra of dendritic compounds. *Int. J. Mass Spectrom.* 249, 138.
- [160] Felder T., Schalley C.A., Fakhrnabavi H., Lukin O., 2005. A combined ESI- and MALDI-MS(/MS) study of peripherally persulfonylated dendrimers: False negative results by MALDI-MS and analysis of defects. *Chemistry-A European Journal.* 11, 5625.
- [161] Liu H., Hakansson K., 2006. Divalent Metal Ion-Peptide Interactions Probed by Electron Capture Dissociation of Trications. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 17, 1731.
- [162] James P.F., Perugini M.A., O'Hair R.A.J., 2008. Electron Capture Dissociation of Complexes of Diacylglycerophosphocholine and Divalent Metal Ions: Competition Between Charge Reduction and Radical Induced Phospholipid Fragmentation. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 19, 978.
- [163] Liang X.L.R., Liu J., Leblanc Y., Covey T., Ptak A.C., Brenna J.T., McLuckey S.A., 2007. Electron Transfer Dissociation of Doubly Sodiated Glycerophosphocholine Lipids. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 18, 1783.
- [164] James P.F., Perugini M.A., O'Hair R.A.J., 2008. Electron Capture Dissociation of Complexes of Diacylglycerophosphocholine and Divalent Metal Ions: Competition Between Charge Reduction and Radical Induced Phospholipid Fragmentation. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 19, 978.
- [165] Ottaviani M.F., Turro N.J., Jockusch S., Tomalia D.A., 1996. Aggregational Process of the Positively Charged Surfactants CTAC and CAT16 in the Presence of Starburst Dendrimers: An Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopic Study. *Colloid Surf. A.* 115, 9.
- [166] Crooks R.M., Zhao M., Sun L., Chechik V., Yeung L.K., 2001. Dendrimer Encapsulated Metal Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Applications to Catalysis. *Acc. Chem. Res.* 34, 181.
- [167] Krot K.A., de Namor A.F.D., Aguilar-Cornejo A., Nolan K.B., 2005. Speciation, Stability Constants, and Structures of Complexes of Copper(II), Nickel(II), Silver(I), and Mercury(II) with PAMAM Dendrimer and Related Tetraamide Ligands. *Inorg. Chim. Acta.* 358, 3497.
- [168] Zhao Z., Wang J., Mao H.Q., Leong K.W., 2003. Polyphosphoesters in Drug and Gene Delivery. *Adv. Drug. Del. Rev.* 55, 483.

- [169] Chaubal M.V., Sen Gupta A., Lopina S.T., Bruley D.F., 2003. Polyphosphates and Other Phosphorus-Containing Polymers for Drug Delivery Applications. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Sys.* 20, 295.
- [170] Nair, L.S. Laurencin C.T., 2007. Biodegradable polymers as biomaterials. *Progress In Polymer Science.* 32, 762.
- [171] Wong S.Y., Pelet J.M., Putnam D., 2007. Polymer systems for gene delivery-past, present, and future. *Progress In Polymer Science.* 32, 799.
- [172] Wagner E., Kloeckner J., 2006. Gene delivery using polymer therapeutics., *Polymer Therapeutics I: Polymers as drugs, conjugates and gene delivery systems.* Book Series: *Advances in Polymer Science.* 192, 135.
- [173] Wang S., Wan A.C.A., Xu X.Y., Gao S.J., Mao H.Q., Leong K.W., Yu H., 2001. A New Nerve Guide Conduit Material Composed of a Biodegradable Poly(Phosphoester). *Biomaterials.* 22, 1157.
- [174] Lu Z.Z., Wu J., Sun T.M., Ji J., Yan L.F., Wang J. 2008. Biodegradable Polycation and Plasmid DNA Multilayer Film for Prolonged Gene Delivery to Mouse Osteoblasts. *Biomaterials.* 29, 733.
- [175] Wang J., Huang S.W., Zhang P.C., Mao H.Q., Leong K.W., 2003. Effect of Side-Chain Structures on Gene Transfer Efficiency of Biodegradable Cationic Polyphosphoesters. *Int. J. Pharm.* 265, 75.
- [176] Wang J., Mao H.Q., Leong K.W., 2001. A Novel Biodegradable Gene Carrier Based on Polyphosphoester. *J. Am. Chem. Soc.* 123, 9480.
- [177] Wang Y.C., Tang L.Y., Sun T.M., Li C.H., Xiong M.H., Wang J., 2008. Self-Assembled Micelles of Biodegradable Triblock Copolymers Based on Poly(Ethyl Ethylene Phosphate) and Poly(Epsilon-Caprolactone) as Drug Carriers. *Biomacromolecules.* 9, 388.
- [178] Wen J., Kim G.J.A., Leong K.W., 2003. Poly(D,Llactide-co-ethyl ethylene phosphate)s as new drug carriers., *Journal of Controlled Release.* 92, 39.
- [179] Reddi A.H., 1994. Symbiosis of Biotechnology and Biomaterials-Applications in Tissue Engineering of Bone and Cartilage. *J. Cell. Biochem.* 56,192.
- [180] Wang D.A., Williams C.G., Yang F., Cher N., Lee H., Elisseeff J.H., 2005. Bioresponsive Phosphoester Hydrogels for Bone Tissue Engineering. *Tissue Eng.* 11, 201.
- [181] Li Q., Wang J., Shahani S., Sun D.D.N., Sharma B., Elisseeff J.H., Leong K.W., 2006. Biodegradable and Photocrosslinkable Polyphosphoester Hydrogel. *Biomaterials.* 27, 1027.
- [182] Kemal E., Adesanya K.O., Deb S., 2011. Phosphate based 2-hydroxyethyl methacrylate hydrogels for biomedical applications. *J. Matter. Chem.* 21, 2237.
- [183] Wang Y.C., Yuan Y.Y., Du J.Z., Yang X.Z., Wang J., 2009. Recent Progress in Polyphosphoesters: From Controlled Synthesis to Biomedical Applications. *Macromolecular Bioscience.* 9, 1154.

- [184] Hubbell J.A., 1995. Biomaterials in tissue engineering. *Bio-Technology*. 13, 565.
- [185] Iwasaki Y., Wachiralarpphaithoon C., Akiyoshi K., 2007. Novel Thermo-responsive Polymers Having Biodegradable Phosphoester Backbones. *Macromolecules*. 40, 8136.
- [186] Zhang P.C., Wang J., Leong K.W., Mao H.Q., 2005. Ternary complexes comprising polyphosphoramidate gene carriers with different types of charge groups improve transfection efficiency. *Biomacromolecules*. 6, 54.
- [187] Renier L.M., Kohn D.H., 1997. Development and Characterization of a Biodegradable Polyphosphate. *J. Biomed. Mater. Res.* 34, 95.
- [188] Ignatius A.A., Claes L.E., 1996. In Vitro Biocompatibility of Bioresorbable Polymers: Poly(L,DL-Lactide) and Poly(L-Lactide-Co-Glycolide). *Biomaterials*. 17, 831.
- [189] Montaudo G., Garozzo D., Montaudo M.S., Puglisi C., Samperi S., 1995. Molecular and Structural Characterization of Polydisperse Polymers and Copolymers by Combining MALDI-TOF Mass Spectrometry with GPC Fractionation. *Macromolecules*. 28, 7983.
- [190] Bahr U., Deppe A., Karas M., Hillenkamp F., Giessmann U., 1992. Mass spectrometry of synthetic polymers by UV-matrix-assisted laser desorption/ionization. *Anal. Chem.* 64, 2866.
- [191] Danis P.O., Karr D.E., Mayer F., Holle A., Watson C.H., 1992. The analysis of water-soluble polymers by matrix-assisted laser desorption time-of-flight mass spectrometry. *Organic Mass Spectrom.* 27, 843.
- [192] Montaudo G., Garozzo D., Montaudo M.S., Puglisi C., Samperi F., 1995. Molecular and Structural Characterization of Polydisperse Polymers and Copolymers by Combining MALDI-TOF Mass Spectrometry with GPC Fractionation. *Macromolecules*. 28, 7983.
- [193] Schulten H.R., Lattimer R.P., 1984. Applications of mass spectrometry to polymers. *Mass Spectrom. Rev.* 3, 231.
- [194] Schriemer D.C., Li L., 1996. Detection of high molecular weight narrow polydisperse polymers up to 1,5 million Daltons by MALDI mass spectrometry. *Anal. Chem.* 68, 2721.
- [195] Bletsos I.V., Hercules D.M., VanLeyen D., Benninghoven A., 1987. Time-of-flight secondary ion mass spectrometry of polymers in the mass range 500-10000. *Macromolecules*. 20, 407.
- [196] McEwen C.N., Peacock P.M., 2002. Mass Spectrometry of Chemical Polymers. *Anal. Chem.* 74, 2743.
- [197] Hanton S.D., 2001. Mass Spectrometry of Polymers and Polymer Surfaces. *Chem. Rev.* 101, 527.
- [198] Zhu H.H., Yalcin T., Li L., 1998. Analysis of the accuracy of determining average molecular weights of narrow polydispersity polymers by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.* 9, 275.

- [199] Jackson A.T., Williams J.P., Scrivens J.H., 2006. Desorption electrospray ionisation mass spectrometry and tandem mass spectrometry of low molecular weight synthetic polymers., *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 20, 2717.
- [200] Thomson B., Suddaby K., Rudin A., Lajoie G., 1996. Characterisation of low molecular weight polymers using matrix assisted laser desorption time-of-flight mass spectrometry. *Europ. Polym. J.* 32, 239.
- [201] Räder H.J., Spickermann J., Kreyenschmidt M., Müllen K., 1996. MALDI-TOF mass spectrometry in polymer analytics, 2. Molecular weight analysis of rigid-rod polymers. *Macrom. Chem. Phys.* 197, 3285.
- [202] Simonsick W.J.J., Petkovska V.I., 2008. Detailed Structural Elucidation of Polyesters and Acrylates Using Fourier Transform Mass Spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 392, 575.
- [203] Chaubal M.V., Su G., Spicer E., Dang W.B., Branham K.E., English J.P., Zhao Z., 2003. In Vitro and In Vivo Degradation Studies of a Novel Linear Copolymer of Lactide and Ethylphosphate. *J. Biomat. Sci. Polym.* 14, 45.
- [204] Li F., Feng J., Zhuo R.X., 2006. Synthesis and characterization of novel biodegradable poly(p-dioxanone-co-ethyl ethylene phosphate)s. *J. Appl. Polym. Sci.* 102, 5507.
- [205] Chaubal M.V., Wang B., Su G., Zhao Z., 2003. Compositional analysis of biodegradable polyphosphoester copolymers Rusing NMR spectroscopic methods. *J. Appl. Polym. Sci.* 90, 4021.
- [206] Wang Y.C., Tang L.Y., Li Y., Wang J., 2009. Thermoresponsive Block Copolymers of Poly(ethylene glycol) and Polyphosphoester: Thermo-Induced Self-Assembly, Biocompatibility, and Hydrolytic Degradation Thermoresponsive Block Copolymers of Poly(ethylene glycol) and Polyphosphoester: Thermo-Induced Self-Assembly, Biocompatibility, and Hydrolytic Degradation., *Biomacromolecules.* 10, 66.
- [207] Cooper H.J., Hudgins R.R., Marshall A.G., 2004. Electron Capture Dissociation of Cyclodepsipeptides, Branched Peptides and -Peptides. *Int. J. Mass Spectrom.* 234, 24.
- [208] Stensballe A., Jensen O.N., Olsen J.V., Haselmann K.F., Zubarev R. A., 2000. Electron Capture Dissociation of Singly and Multiply Phosphorylated Peptides. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 14, 1793.
- [209] Shi S.D.H., Hemling M.E., Carr S.A., Horn D.M., Lindh I., McLafferty F.W., 2001. Phosphopeptide/Phosphoprotein Mapping by Electron Capture Dissociation Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 73, 19.
- [210] Cannon R.D., White R.P. 1988. Chemical and Physical Properties of Triangular Bridged Metal Complexes. *Prog. Inorg. Chem.* 36, 195.
- [211] Novitchi G., Helm L., Anson C., Powell A.K., Merbach A.E., NMR 2011. Study of Ligand Exchange and Electron Self-Exchange between Oxo-Centered Trinuclear Clusters $[\text{Fe}_3(\mu_3\text{-O})(\mu\text{-O}_2\text{CR})_6(4\text{-R'py})_3]^{+0}$. *Inorg. Chem.* 50, 10402.

- [212] Baranwal B.P., Fatma T., Varma A., 2009. Synthesis, Spectral and Thermal Characterization of Nano-Sized, Oxo-Centered, Trinuclear Carboxylate-Bridged Chromium(III) Complexes of Hydroxycarboxylic Acids. *J. Mol. Struct.* 920, 472.
- [213] Christian P., Rajaraman G., Harrison A., Helliwell M., McDouall J.J.W., Raftery J., Winpenny R.E.P., 2004. Synthesis and Studies of a Trinuclear Mn(II) Carboxylate Complex. *Dalton Trans.* 16, 2550.
- [214] Yazdanbakhsh M., Lotfian N., Tavakkoli H., Boese R., 2011. Synthesis, characterization and crystal structure analysis of a novel oxo-centered mixed-metal complex containing unsaturated bridging carboxylates. *Central Europ. J. Chem.* 9, 585.
- [215] Alexandru M.G., Buriez O., Jitaru I., 2010. Synthesis Characterization and Voltammetric Studies of Trinuclear Mixed Valence Iron oxo Complexes $[\text{Fe}(2)\text{MO}(\text{OAc})(6)(\text{OH}(2))(3)]$, $\text{M}(\text{II}) = \text{Fe}, \text{Co}, \text{Cu}$., *Revista de Chimie.* 61, 462.
- [216] Blondin G., Girerd J.J., 1990. Interplay of electron exchange and electron-transfer in metal polynuclear complexes in protein or chemical models, *Chem. Rev.* 90, 1359.
- [217] Figuerola A., Tangoulis V., Ribas J., Hartl H., Brudgam I., Maestro M., Diaz C., 2007. Synthesis, Crystal Structure and Magnetic Studies of Oxo-Centered Trinuclear Chromium(III) Complexes: $[\text{Cr}-3(\mu(3)-\text{O})(\mu(2)-\text{PhCOO})(6)(\text{H}_2\text{O})(3)]\text{NO}_3$ center dot $4\text{H}(2)\text{O}\cdot 2\text{CH}(3)\text{OH}$, a Case of Spin-Frustrated System, and $[\text{Cr}-3(\mu(3)-\text{O})(\mu(2)-\text{PhCOO})(2)(\mu(2)-\text{OCH}_2\text{CH}_3)(2)(\text{bpy})(2)(\text{NCS})(3)]$, a new type of $[\text{Cr}_3\text{O}]$ Core. *Inorg. Chem.* 46, 11017.
- [218] D'Alessandro D.M., Keene F.R., 2006. Intervalence Charge Transfer (IVCT) in Trinuclear and Tetranuclear Complexes of Iron, Ruthenium, and Osmium. *Chem. Rev.* 106, 2270.
- [219] Baranwal B.P., Fatma T., Gupta R.D., Gupta T., 2007. Stepwise Substitution of Oxo-Centered, Trinuclear Chromium(III) Carboxylates with Schiff Base. *Trans. Met. Chem.* 32, 501.
- [220] Gao F-X., Gu W., Yang Y-S., Ma X-F., Qian J., Yan S-P., 2008. An oxo-centered carboxylate-bridged trinuclear complex: synthesis, crystal structure, and magnetic properties of $[\text{Cr}_3(\mu_3\text{-O})(\text{HL})_2(\text{H}_2\text{O})_3](\text{ClO}_4)_3$. *J. Coord. Chem.* 61, 1455.
- [221] Caneschi A., Gatteschi D., Sessoli R., Barra A.L., Brunel L.C., Guillot M., 1991. Alternating-Current Susceptibility, High-Field Magnetization, and Millimeter Band EPR Evidence for a Ground S_{10} State In $[\text{Mn}_{12}\text{O}_{12}(\text{CH}_3\text{COO})_{16}(\text{H}_2\text{O})_4]_2\text{CH}_3\text{COOH}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$. *J. Am. Chem. Soc.* 113, 5873.
- [222] Langley S.K., Stott R.A., Chilton N.F., Moubaraki B., Murray K. S., 2011. A high nuclearity mixed valence $\{\text{Mn}(32)\}$ complex., *Chem. Comm.* 47, 6281.

- [223] Gatteschi D., Sessoli R., 2003. Quantum Tunneling of Magnetization and Related Phenomena in Molecular Materials. *Angew. Chem. Intl. Ed.* 42, 268.
- [224] Bircher R., Chaboussant G., Dobe C., Gudel H.U., Ochsenbein S.T., Sieber A., Waldmann O., 2006. Single-Molecule Magnets Under Pressure. *Adv. Funct. Mater.* 16, 209.
- [225] Cage B., Russek S.E., Shoemaker R., Barker A.J., Stoldt C., Ramachandaran V., Dalal N.S., 2007. The Utility of the Single-Molecule Magnet Fe-8 as a Magnetic Resonance Imaging Contrast Agent over a Broad Range of Concentration. *Polyhedron.* 26, 2413.
- [226] Christou G., 2005. Single-Molecule Magnets: A Molecular Approach to Nanoscale Magnetic Materials. *Polyhedron.* 24, 2065.
- [227] Coronado E., Gatteschi D., 2006. Trends and Challenges in Molecule-Based Magnetic Materials. *J. Mater. Chem.* 16, 2513.
- [228] Gatteschi D., Sessoli R., Cornia A., 2000. Single-Molecule Magnets Based on Iron(III) Oxo Clusters. *Chem. Commun.* 9, 725.
- [229] Milios C.J., Piligkos S., Brechin E.K., 2008. Ground State Spin-Switching Via Targeted Structural Distortion: Twisted Single-Molecule Magnets from Derivatized Salicylaldoximes. *Dalton Trans.* 14, 1809.
- [230] Dziobkowski C.T., Wroblewski J.T., Brown D.B., 1981. Magnetic and Spectroscopic Properties of $\text{FeIIFeIII}_2(\text{CH}_3\text{CO}_2)_6\text{L}_3$, L = Water or Pyridine. Direct Observation of the Thermal Barrier to Electron Transfer in a Mixed-Valence Complex. *Inorg. Chem.* 20, 679.
- [231] Jang H.G., Geib S.J., Kaneko Y., Nakano M., Sorai M., Rheingold A.L., Montez B., Hendrickson D.N., 1989. Lattice-Engineered Micromodulation of Intramolecular Electron-Transfer Rates in Trinuclear Mixed-Valence Iron Acetate Complexes. *J. Am. Chem. Soc.* 111, 173.
- [232] Oh S.M., Hendrickson D.N., Hassett K.L., Davis R.E., 1985. Valence-detrapping modes for electron transfer in the solid state of mixed-valence, oxo-centered, trinuclear iron acetate complexes: x-ray structure and physical data for $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{O}_2\text{CCH}_3)_6(4\text{-Et-py})_3](4\text{-Et-py})$. *J. Am. Chem. Soc.* 107, 8009.
- [233] Pandey A.K., Gupta T., Baranwal B.P., 2004. Trinuclear, Oxo-Bridged, Mixed-Valence Iron Mercaptocarboxylates. *Trans. Met. Chem.* 29, 370.
- [234] Baranwal B.P., Fatma T., 2006. Synthesis and Spectral Characterization of Novel Oxo-Bridged, Thiocarboxylato Complexes of Chromium(III). *Russ. J. Coord. Chem.* 32, 824.
- [235] Baranwal B.P., Fatma T., 2005. Synthesis and characterization of oxo-bridged, trinuclear, six-coordinate mixed-carboxylato complexes of chromium(III). *J. Mol. Str.* 750, 72.
- [236] Harton A., Nagi M.K., Glass M.M., Junk P.C., Atwood J.L., Vincent J.B., 1994. Synthesis and characterization of symmetric and unsymmetric oxo-bridged trinuclear chromium benzoate complexes: Crystal and molecular structure of $[\text{Cr}_3\text{O}(\text{O}_2\text{CPh})_6(\text{py})_3]\text{ClO}_4$. *Inorg. Chim. Acta.* 217, 171.

- [237] Vlachos A., Psycharis V., Raptopoulou C.P., Lalioti N., Sanakis Y., Diamantopoulos G., Fardis M., Karayanni M., Papavassiliou G., Terzis A., 2004. A nearly symmetric trinuclear chromium(III) oxo carboxylate assembly: preparation, molecular and crystal structure, and magnetic properties of $[\text{Cr}_3\text{O}(\text{O}_2\text{CPh})(6)(\text{MeOH})(3)](\text{NO}_3)$ center dot 2MeOH . *Inorg. Chim. Acta.* 357, 3162.
- [238] An J., Chen Z.D., Bian J.A., Jin X.L., Wang S.X., Xu G.X., 2009. Synthesis, Crystal Structures, and Magnetic Properties of Trinuclear Oxo-Centered Manganese Complexes of the General Formula $[\text{Mn}_3\text{O}(\text{O}_2\text{CR})(6)\text{L-3}](\text{z}_-)$ ($\text{R} = \text{Me, Et, Ph, CH}_2\text{Cl}$; L-3 -Methylpyridine or Water $\text{z}_-1, 0$). *Inorg. Chim. Acta.* 287, 82.
- [239] Baiko A.R.E., Hursthouse M.B., New D.B., Thornton P., 1978. Preparation, Crystal Structure, and Magnetic Properties of a Trinuclear Mixed-Valence Manganese Carboxylate. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 2, 62.
- [240] Baca S.G., Stoeckli-Evans H., Ambrus C., Malinovskii S.T., Malaestean I., Gerbeles N., Decurtins S., Synthesis, 2006. Crystal Structures, and Magnetic Properties of Trinuclear Oxo-Centered Homo- and Mixed-Valence Manganese Pivalate Complexes with Imidazole (Im) and 1-Methylimidazole (1-Melm): $[(\text{MnO})\text{-O-III}(\text{O}_2\text{CCMe}_3)(6)(\text{Im})(3)](\text{Me}_3\text{CCO})$ center dot $0.5\text{Me}_3\text{CCO}(2)\text{H}$ and $[(\text{MnMnO})\text{-Mn-III-O-II}(\text{O}_2\text{CCMe}_3)(6)(1\text{-MeIm})(3)]$. *Polyhedron.* 25, 3617.
- [241] Taleb N., Richards V.J., Argent S.P., van Slageren J., Lewis W., Blake A.J., Champness N.R., 2011. A mixed valence manganese triangle in a trigonal lattice: structure and Magnetism. *Dalton Trans.* 40, 5891.
- [242] Viciano-Chumillas M., Tanase S., Roubeau O., Teat S.J., de Jongh L.J., Reedijk J., 2010. An Oxide-Centered Trinuclear Manganese(III) Compound with a Bulky Phenol-Pyrazolate Ligand. *Europ. J. Inorg. Chem.* 6, 947.
- [243] Viciano-Chumillas M., Tanase S., Mutikainen I., Turpeinen U., de Jongh L.J., Reedijk J., 2009. Manganese(III) compounds with phenol-pyrazole based-ligands: impact of the co-ligand and the carboxylate ligand on the trinuclear core $[\text{Mn}_3(\mu_3\text{-O})(\text{phpzR})(3)(\text{O}_2\text{CR}')(\text{n})](1\text{-n})$. *Dalton Trans.* 36, 7445.
- [244] Viciano-Chumillas M., Tanase S., de Jongh L.J., Reedijk J., 2010. Coordination Versatility of Pyrazole-Based Ligands towards High-Nuclearity Transition-Metal and Rare-Earth Clusters. *Europ. J. Inorg. Chem.* 22, 3403.
- [245] Viciano-Chumillas M., Tanase S., Mutikainen I., Turpeinen U., de Jongh L.J., Reedijk J., 2008. Mononuclear manganese(III) complexes as building blocks for the design of trinuclear manganese clusters: Study of the ligand influence on the magnetic properties of the $[\text{Mn}_3(\mu_3\text{-O})](7+)$ core. *Inorg Chem.* 47, 5919.

- [246] Yazdanbakhsh M., Khosravi I., Tavakkoli H., 2009. Synthesis and characterization of novel oxo-bridged, trinuclear mixed-metal complexes of Cr(III) and Fe(III). *J. Serb. Chem. Soc.* 74, 401.
- [247] Yazdanbakhsh M., Tavakkoli H., 2008. Synthesis and characterization of two novel mixed-valent and metal oxo-centered trinuclear complexes $[\text{Fe}_2\text{CoO}(\text{CHCl}_2\text{COO})(6)(\text{py})(3)]$ and $[\text{Mn}_2\text{MnO}(\text{CHCl}_2\text{COO})(6)(\text{py})(3)]$. *Pol. J. Chem.* 82, 1519.
- [248] Overgaard J., Larsen F.K., Timco G.A., Iversen B.B., 2009. Experimental charge density in an oxidized trinuclear iron complex using 15 K synchrotron and 100 K conventional single-crystal X-ray diffraction., *Dalton Trans.* 4, 664.
- [249] Afroj D., Katada M., 2005. Variable temperature Mossbauer spectroscopic studies of oxo-centered trinuclear mixed-valence iron succinate, mesaconate and isophthalate complexes. *Hyperfine Interactions.* 166, 409.
- [250] Sato T., Nakada M., Endo K., Katada M., Sano H., 1991. Coincidence Mossbauer Spectroscopic Studies on CO-57 Labeled $(\text{COFE}_2\text{O}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_6(\text{H}_2\text{O})_3)$. *J. Radioanal. Nuclear Chem. Lett.* 154, 95.
- [251] Pap J.S., Kaizer J., Giorgi M., Speier G., 2010. Molecular and electronic structure of a trinuclear oxo-centred Iron(III) complex with trigonal bipyramidal metal sites., *Inorg. Chem. Comm.* 13, 1069.
- [252] Van den Bergen A., Colton R., Percy M., West B.O., 1993. Electrospray Mass Spectrometric Study of $[\text{M}_3\text{O}(\text{RCOO})_6\text{L}_3]^+$ cations (M = Cr, Fe L = H₂O, MeOH, Py). *Inorg. Chem.* 32, 3408.
- [253] Palii S.P., Richardson D.E., Hansen M.L., Iversen B.B., Larsen F.K., Singorean L., Timco G.A., Gerbelev N.V., Jennings K.R., Eyler J.R., 2001. Mixed-Terminal-Ligand Oxo-Centered Carboxylate-Bridged Trinuclear Complexes: Gas Phase Generation by Means of Electrospray Ionization FT-ICR MS, Condensed Phase Synthesis and X-Ray Structure of $\text{K}[\text{Cr}_3\text{O}(\text{C}_6\text{H}_5\text{COO})(6)(\text{F})(2)(\text{H}_2\text{O})](-) \cdot 2(\text{CH}_3)_2\text{CO}$. *Inorg. Chim. Acta.* 319, 23.
- [254] Corradini V., Cervetti C., Ghirri A., Biagi R., del Pennino U., Timco G.A., Winpenny R.E.P., Affronte M., 2011. Oxo-centered carboxylate-bridged trinuclear complexes deposited on Au(111) by a mass-selective electrospray. *New J. Chem.* 35, 1683.
- [255] Feketeova L., Ryzhov V., O'Hair R.A.J., 2009. Comparison of collision- versus electron-induced dissociation of Pt(II) ternary complexes of histidine- and methionine-containing peptides. *Rapid Comm Mass Spectrom.* 23, 3133.
- [256] Mosely J.A., Smith M.J.P., Prakash A.S., Sims M., Bristow A.W.T., 2011. Electron-Induced Dissociation of Singly Charged Organic Cations as a Tool for Structural Characterization of Pharmaceutical Type Molecules. *Anal. Chem.* 83, 4068.

- [257] Feketeova L., Khairallah G.N., Brunet C., Lemoine J., Antoine R., Dugourd P., O'Hair R.A.J., 2010. Fragmentation of the tryptophan cluster [Trp(9)-2H](2-) induced by different activation methods., *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 24, 3255.
- [258] Yoo H.J., Liu H.C., Hakansson K., 2007. Infrared Multiphoton Dissociation and Electron-Induced Dissociation as Alternative MS/MS Strategies for Metabolite Identification. *Anal. Chem.* 79, 7858.
- [259] Feketeova L., Khairallah G.N., O'Hair R.A.J., 2008. Letter: Intercluster Chemistry of Protonated and Sodiated Betaine Dimers Upon Collision Induced Dissociation and Electron Induced Dissociation. *Eur. J. Mass Spectrom.* 14, 107.
- [260] Khairallah G.N., O'Hair R.A.J., Bruce M.I., 2006. Gas-Phase Synthesis and Reactivity of Binuclear Gold Hydride Cations, (R3PAu)(2)H_(R_Me and Ph). *Dalton Trans.* 30, 3699.
- [261] Feketeova L., O'Hair R.A.J., 2009. Comparison of Collision-Versus Electron-Induced Dissociation of Sodium Chloride Cluster Cations. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 23, 60.
- [262] Mikhailov V.A., Akibo-Betts G., Stace A.J., 2002. On the Reactions of Ca-n(+), Sr-n(+), and Ba-n(+) with Water and Alcohols. *J. Phys. Chem. A.* 106, 8583.
- [263] Walker N.R., Wright R.R., Barran P.E., Murrell J.N., Stace A.J., 2001. Comparisons in the Behavior of Stable Copper(II), Silver(II), and Gold(II) Complexes in the Gas Phase: Are the Implications for Condensed-Phase Chemistry? *J. Am. Chem. Soc.* 123, 4223.
- [264] Walker N.R., Wright R.R., Barran P.E., Stace A.J., 1999. Stable Gold(II) Complexes in the Gas Phase. *Organometallics.* 18, 3569.
- [265] Walker N.R., Wright R.R., Stace A.J., 1999. Stable Ag(II) Coordination Complexes in the Gas Phase. *J. Am. Chem. Soc.* 121, 4837.
- [266] Bojarski J., 1999. *Chemia organiczna*. Wydanie VI. Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego Kraków.
- [267] Malinowska E., Meyerhoff M.E., 1995. Role of axial ligation on potentiometric response of Co(III) tetraphenylporphyrin-doped polymeric membranes to nitrite ions. *Anal. Chim. Acta.* 300, 33.
- [268] Hoard J.L., Cohen G.H., Glick M.D., 1967. The Stereochemistry of the Coordination Group in an Iron(III) Derivative of Tetraphenylporphine. *J. Am. Chem. Soc.* 89, 1992.
- [269] Scheidt R.W., Reed C.A., 1981. Spin-state/stereochemical relationships in iron porphyrins: implications for the hemoproteins. *Chem. Rev.* 81, 543.
- [270] Hoard J.L., 1971. Stereochemistry of Hemes and Other Metalloporphyrins. *Science.* 174, 1295.
- [271] Collins D.M., Countryman R., Hoard J.L., 1972. Stereochemistry of low-spin iron porphyrins. I. Bis(imidazole).alpha.,beta.,gamma.,delta.-tetraphenylporphinatoiron(III) chloride. *Am. Chem. Soc.* 94, 2066.

- [272] Scheidt R.W., Hoard J.L., 1973. Stereochemistry of low-spin cobalt porphyrins. I. Structure and bonding in a nitrosylcobalt porphyrin and their bearing on one rational model for the oxygenated protoheme. *Am. Chem. Soc.* 95, 8281.
- [273] Countryman R.P., Collins D.M., Hoard J.H., 1969. Stereochemistry of the low-spin iron porphyrin, bis(imidazole)-.alpha.,.beta.,.gamma.,.delta.-tetraphenylporphinatoiron(III) chloride., *J. Am. Chem. Soc.* 91, 5166.
- [274] Patra R., Chaudhary A., Ghosh S.K., Rath S.P., 2010. Axial Ligand Orientations in a Distorted Porphyrin Macrocycle: Synthesis, Structure, and Properties of Low-Spin Bis(imidazole)iron(III) and Iron(II) Porphyrinates. *Inorg. Chem.* 49, 2057.
- [275] Chaudhary A., Patra R., Rath S.P., 2011. Synthesis, structure and properties of a high-spin Fe(III) porphyrin with non-equivalent axial ligands: Implications for the hemoproteins . *Ind. J. Chem., A -Inorg. Bio-Inorg Phys. Theo. Anal. Chem.* 50, SI, 432.
- [276] Patra R., Chaudhary A., Ghosh S.K., Rath S.P., 2008. Modulation of metal displacements in a saddle distorted macrocycle: Synthesis, structure, and properties of high-spin Fe(III) porphyrins and implications for the hemoproteins. *Inorg. Chem.* 47, 8324.
- [277] Patra R., Bhowmik S., Ghosh S.K., Rath S.P., 2010. Effects of axial pyridine coordination on a saddle-distorted porphyrin macrocycle: stabilization of hexa-coordinated high-spin Fe(III) and air-stable low-spin iron(II) porphyrinates. *Dalt. Trans.* 39, 5795.
- [278] Chaudhary A., Patra R., Rath S.P., 2010. Binding of Catechols to Iron(III)-Octaethylporphyrin: An Experimental and DFT Investigation., *Europ. J. Inorg. Chem.* 33, 5211.
- [279] Patra R., Rath S.P., 2009. Cyanide binding to iron in a highly distorted porphyrin macrocycle: Synthesis and structure of low-spin Fe(II) dicyano porphyrin., *Inorg. Chem. Comm.* 12, 515.
- [280] Kirner J.F., Scheidt W.R., 1975. Stereochemistry of manganese porphyrins. I. Molecular stereochemistry of chloro-.alpha., .beta., .gamma., .delta.-tetraphenylporphinato(pyridine)manganese(III). *Inorg. Chem.* 14, 2081.
- [281] Kirner J.F., Reed C.A., Scheidt W.R., 1977. Stereochemistry of manganese porphyrins. 3. Molecular stereochemistry of .alpha.,.beta., .gamma.,.delta.-tetraphenylporphinato(1-methylimidazole)manganese(II). *J. Am. Chem. Soc.* 99, 2557.
- [282] Kirner J.F., Reed C.A., Scheidt W.R., 1977. Stereochemistry of manganese porphyrins. 2. The toluene solvate of .alpha.,.beta.,.gamma., .delta.-tetraphenylporphinatomanganese(II) at 20 and -175.degree.C. *J. Am. Chem. Soc.* 99, 1093.
- [283] Hopf F.R., O'Brien T.P., Scheidt W.R., Whitten D.G., 1975. Structure and reactivity of ruthenium(II) porphyrin complexes. Photochemical ligand ejection and formation of ruthenium porphyrin dimers. *J. Am. Chem. Soc.* 97, 277.

- [284] Dwyer P.N., Madura P., Scheidt W.R., 1974. Stereochemistry of low-spin cobalt porphyrins. VI. Molecular stereochemistry of (1,2-dimethylimidazole)-.alpha.,.beta.,.gamma.,.delta.-tetraphenylporphinatocobalt(II). *J. Am. Chem. Soc.* 96, 4815.
- [285] Scheidt W.R., Cunningham J.A., Hoard J.L., 1973. Stereochemistry of low-spin cobalt porphyrins. II. Bis(piperidine)-.alpha.,.beta.,.gamma.,.delta.-tetraphenylporphinatocobalt(III) cation in a crystalline solvated salt. *J. Am. Chem. Soc.* 95, 8289.
- [286] Battersby A.R., 1993. How nature builds the pigments of life. *Pure Appl. Chem.* 65, 1113.
- [287] Battersby A.R., 2000. Tetrapyrroles: the pigments of life. *Nat. Prod. Rep.* 17, 507.
- [288] Perutz M.F., 1979. Regulation of Oxygen Affinity of Hemoglobin: Influence of Structure of the Globin on the Heme Iron. *Ann. Rev. Biochem.* 48, 327.
- [289] Fisher W.R., Taniuchi H., Anfinsen C.B., 1973. Role of heme in formation of structure of Cytochrome-C. *J. Bio. Chem.* 248, 3188.
- [290] Lichtenthaler H.K., 1987. Chlorophylls and Carotenoids – pigments of photosynthetic biomembranes. *Met. Enzym.* 148, 350.
- [291] Battersby A.R., 1994. How nature builds the pigments of life: the conquest of vitamin B12. *Science.* 264, 1551.
- [292] Dawson J.H., 1988. Probing structure-function relations in heme-containing oxygenases and peroxidases. *Science.* 240, 433.
- [293] Dawson J.H., Sono M., 1987. Cytochrome P-450 and chloroperoxidase: thiolate-ligated heme enzymes. Spectroscopic determination of their active-site structures and mechanistic implications of thiolate ligation. *Chem. Rev.* 87, 1255.
- [294] Smith A.G., Raven E.L., Chernova T., 2011. The regulatory role of heme in neurons. *Metallomics.* 3, 955.
- [295] Weiss C., 1972. The Pi electron structure and absorption spectra of chlorophylls in solution. *J. Mol. Spec.* 44, 37.
- [296] Battersby A.R., Leeper F.J., 1990. Biosynthesis of the pigments of life: mechanistic studies on the conversion of porphobilinogen to uroporphyrinogen III. *Chem. Rev.* 90, 1261.
- [297] Battersby A.R., 1989. Biosynthetic and synthetic studies on the pigments of life. *Pure Appl. Chem.* 61, 337.
- [298] Alefounder P.R., Hart G.J., Miller A.D., Beifuss U., Abell C., Leeper F.J., Battersby A.R., 1989. Biosynthesis of the pigments of life: Structure and mode of action of a novel enzymatic cofactor. *Bioorg. Chem.* 17, 121.
- [299] Battersby A.R., 1988. Biosynthesis of the Pigments of Life. *J. Nat. Prod.* 51, 629.
- [300] Battersby A. R., 1987. Nature's pathways to the pigments of life. *Nat. Prod. Rep.* 4, 77.

- [301] Battersby A.R., 1986. Biosynthesis of the Pigments of Life. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 471, 138.
- [302] Battersby A.R. Fookes C.J.R., Matcham G.W.J., McDonald E., 1980. Biosynthesis of the pigments of life: formation of the macrocycle. *Nature*. 285, 17.
- [303] Thorman J.L., Guzei I.A., Young V.G., Woo L.K., 1999. Synthesis, Structure, and Reactivity of Zirconium and Hafnium Imido Metalloporphyrins. *Inorg. Chem.* 38, 3814.
- [304] Fleischer E.B., 1970. Structure of porphyrins and metalloporphyrins. *Acc. Chem. Res.* 3, 105.
- [305] Guillard R., Perrot I., Tabard A., Richard P., Lecomte C., Liu Y.H., Kadish K. M., 1991. Metalloporphyrins containing σ -bonded nitrogen axial ligands. 2. Synthesis and characterization of iron(III) tetrazolato and triazolato porphyrin complexes. Molecular structure of (5-methyltetrazolato)(2,3,7,8,12,13,17,18-octaethylporphinato)iron(III)., *Inorg. Chem.* 30, 27.
- [306] Warshel A., 1977. Energy-structure correlation in metalloporphyrins and the control of oxygen binding by hemoglobin., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 74, 1789.
- [307] Lau P.W., Lin W.C., 1975. Electron spin resonance and electronic structure of some metalloporphyrins. *J. Inorg. Nuc. Chem.* 37, 2389.
- [308] Schmidt N., Fink R., Heringer W., 2010. Assignment of near-edge x-ray absorption fine structure spectra of metalloporphyrins by means of time-dependent density-functional calculations. *J. Chem. Phys.* 133, 1063.
- [309] Kim J., Rhee S.W., Na Y.H., Lee K.P., Do Y., Jeoung S.C., 2001. X-ray structure and electrochemical properties of ferrocene-substituted metalloporphyrins. *Bullet. Kor. Chem. Soc.* 22, 1316.
- [310] Ghosh A., 2000. Electronic structure of porphyrins and metalloporphyrins: past, present and future. *J. Porphyrins Phthalocyanines*. 4, 380.
- [311] Quirke J.M.E., 2000. Mass Spectrometry of porphyrins and metalloporphyrins. In *The Porphyrin Handbook*, Ed. K.M. Kadish, K.M. Smith and R. Guillard. Elsevier Science, Oxford. vol. 7, 371.
- [312] Faramawy S., El-Sabagh S.M., Moustafa Y.M., El-Naggar A.Y., 2010. Mass Spectrometry of Metalloporphyrins in Egyptian Oil Shales from Red Sea Area. *Petroleum Science and Technology*. 28, 603.
- [313] Kachadourian R., Srinivasan N., Haney C.A., Stevens R.D., 2001. An LDI-TOF and ESI mass spectrometry study of a series of beta-substituted cationic metalloporphyrins. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*. 5, 507.
- [314] Vandell V.E., Limbach P.A., 1998. Electrospray ionization mass spectrometry of metalloporphyrins. *J. Mass spectrom.* 33, 212.
- [315] Dale M.J., Costello K.F., Jones A.C., 1996. LangridgeSmith P.R.R., Investigation of posphyrins and metalloporphyrins using two-step laser mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.* 31, 590.

- [316] Van Berkel G.J., McLuckey S.A., Glish G.L., 1991. Electrospray Ionization of Porphyrins using a quadrupole Ion trap for mass analysis. *Anal. Chem.* 63, 1098.
- [317] Van Berkel G.J., Glish G.L., McLuckey S.A., Tuinman A.A., 1990. Porphyrin Pyrrole Sequencing – Low Energy Collision Induced Dissociation of $(M+7H)^+$ Generated In Situ During Ammonia Chemical Ionization. *Anal. Chem.* 62, 786.
- [318] Feil S., Winkler M., Sulzer P., Ptasinska S., Denifl S., Zappa F., Krautler B., Mark T.D., Scheier P., 2006. Single, double and triple ionization of tetraphenyl iron(III) porphyrin chloride. *Int. J. Mass Spectrom.* 255-256, 232.
- [319] Rubino F.M., Banfi G.M., Pozzi G., Quici S., 1993. A study on the solution and gas-phase chemistry of Mn(III) and Fe(III) tetraarylporphyrin complexes by fast-atom bombardment mass spectrometry.1: Generation of molecular signals. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 4, 249.
- [320] Ma L., Song F.R., Liu Z.Y., Liu S.Y., 2001. Investigation of metalloporphyrins and their imidazole complexes using electrospray ionization mass spectrometry. *Chin. J. Anal. Chem.* 29, 573.
- [321] Rubino F.M., Banfi G.M., Pozzi G., Quici S., 1993. A study on the solution and gas-phase chemistry of Mn(III) and Fe(III) tetraarylporphyrin complexes by fast-atom bombardment mass spectrometry. 2: Synthesis and characterization of molecular complexes. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 4, 255.
- [322] Brown R.S., Wilkins C.L., 1986. Laser-desorption Fourier transform mass spectrometry of synthetic porphyrins. *Anal. Chem.* 58, 3196.
- [323] Gozet T., Huynh L., Bohme D.K., 2009. Collision-induced dissociation of tetraphenyl iron and manganese porphyrin ions by electrospray ionization mass spectrometry. *Int. J. Mass Spectrom.* 279, 113.
- [324] Domingues M.R., Nemirovskiy O.V., Graco M., Marques O.S., Neves M.G., Cavaleiro J.A.S., Ferrer-Correia A.J., Gross M.L., 1998. High-and low-energy collisionally activated decompositions of octaethylporphyrin and its metal complexes. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 9, 767.
- [325] Chang C.K., Barkigia K.M., Hanson L.K., Fajer J., 1986. Models of heme d1. Structure and redox chemistry of dioxoisobacteriochlorins. *J. Am. Chem. Soc.* 108, 1352.
- [326] Shaw G.J., Quirke J.M.E., Eglinton J., 1978. Analysis of petroporphyrins by chemical ionisation mass spectrometry. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1655.
- [327] Beato B.D., Yost R.A., Quirke M.J.E., 1991. Carbon number, pyrrolic structure and sequencing information of porphyrin structure in one experiment by desorption tandem mass spectrometry-relevance for geoporphyrins. *Chem. Geol.* 185.
- [328] Rodgers R.P., Hendrickson C.L., Emmett M.R., Marshall A.G., Greaney M., Qian K.N., 2001. Molecular characterization of petroporphyrins in

- crude oil by electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Can. J. Chem.* 79, 546.
- [329] Beato B.D., Yost R.A., Quirke J.M.E., 1989. Doubly charged porphyrin ion tandem mass spectrometry: Implications for structure elucidation. *Org. Mass Spectrom.* 24, 875.
- [330] Jackson A.H., Kenner G.W., Smith K.M., Aplin R.T., Budzikiewicz H., Djerassi C., 1965. Pyrroles and related compounds-8 Mass spectrometry in structural and stereochemical problems-76 the mass spectra of porphyrins. *Tetrahedron.* 21, 2913.
- [331] Laycock J.D., Ferguson J.A., Yost R.A., Quirke J.M.E. Rohrer A., Ocampo R., Callot H., 1997. Electron ionization mass spectrometric analysis of 5-nitro octaethylprophyrin: Evidence for scission of the porphyrin macrocycle. *J. Mass Spectrom.* 32, 978.
- [332] Lehn J.M., 2002. Toward self-organization and complex matter. *Science*, 295, 2400.
- [333] Lehn J.M., 1990. Perspectives in Supramolecular Chemistry-From Molecular Recognition towards Molecular Information Processing and Self-Organization. *Angewandte Chem. Int. Ed.* 29, 1304
- [334] Lehn J.M., 1993. Supramolecular chemistry. *Science.* 260, 1762.
- [335] Lehn J.M., 2007. From supramolecular chemistry towards constitutional dynamic chemistry and adaptive chemistry. *Chem. Soc. Rev.* 36, 151.
- [336] Jones P.L., Byrom K.J., Jeffery J.C., McCleverty J.A., Ward M.D., 1997. A cyclic supramolecular complex containing eight metal ions, twelve bridging ligands, and an anion encapsulated in the central cavity. *Chem. Comm.* 15, 1361.
- [337] Cram D.J., Helgeson R.C, Peacock S.C., Kaplan L.J., Domeier L.A., Moreau P., Koga K., Mayer J.M., Chao Y., 1978. Host-guest complexation. 8. Macrocyclic polyethers shaped by two rigid substituted dinaphthyl or ditetralyl units. *J. Org. Chem.* 43, 1930.
- [338] Pedersen C.J., 1968. Ionic complexes of macrocyclic polyethers. *Federation Proceedings.* 27, 1305.
- [339] Pedersen C.J., 1970. New macrocyclic polyethers. *J. Am. Chem. Soc.* 92, 391.
- [340] Pedersen C.J., 1970. Crystalline salt complexes of macrocyclic polyethers. *J. Am. Chem. Soc.* 92, 386.
- [341] Lehn J.M., 1985. Supramolecular Chemistry: Receptors, Catalysts, and Carriers. *Science.* 227, 849.
- [342] Ringsdorf H., Simon J., 1994. Molecular self-assembly – snap – together vesicles. *Nature.* 371, 284.
- [343] Zhang S.G., 2003. Fabrication of novel biomaterials through molecular self-assembly. *Nature Biotech.* 21, 1171.
- [344] Balzani V., Gomez-Lopez M., Stoddart J.F., 1998. Molecular Machines. *Acc. Chem. Res.* 31, 405.

- [345] Yamada T., Shinoda S., Kikawa K., Ichimura A., Teraoka J., Takui T., Tsukube H., 2000. Supramolecular complex of cytochrome c with lariat ether: Solubilization, redox behavior and catalytic activity of cytochrome c in metanol. *Inorg. Chem.* 39, 3049.
- [346] Suzumura A., Paul D., Sugimoto H., Shinoda S., Julian R.R., Beauchamp J.L., Teraoka J., Tsukube H., 2005. Cytochrome c-crown ether complexes as supramolecular catalysts: cold-active synzymes for asymmetric sulfoxide oxidation in methanol. *Inorg. Chem.* 44, 904.
- [347] McLaughlin C.K., Hamblin G.D., Sleiman H.F., 2011. Supramolecular DNA assembly. *Chem. Soc. Rev.* 40, 5647.
- [348] Safinya C.R., 2001. Structures of lipid-DNA complexes: supramolecular assembly and gene delivery. *Curr. Opin. Str. Biol.* 11, 440.
- [349] Leumann C.J., 2002. DNA analogues: From supramolecular principles to biological properties. *Bioorg. Med. Chem.* 10, 841.
- [350] Hannon M.J., 2007. Supramolecular DNA recognition. *Chem. Soc. Rev.* 36, 280.
- [351] Sawada H., 2003. Novel self-assembled molecular aggregates formed by fluoroalkyl end-capped oligomers and their application. *J. Fluor. Chem.* 121, 111.
- [352] Sangeetha N.M., Maitra U., 2005. Supramolecular gels: Functions and uses. *Chem. Soc. Rev.* 34, 821.
- [353] Hirst A.R., Escuder B., Miravet J.F., Smith D.K., 2008. High-Tech Applications of Self-Assembling Supramolecular Nanostructured Gel-Phase Materials: From Regenerative Medicine to Electronic Devices. *Angew. Chem., Int. Ed.* 47, 8002.
- [354] Dankers P.Y.W., Meijer E.W., 2007. Supramolecular biomaterials. A modular approach towards tissue engineering. *Bul. Chem. Soc. Jap.* 80, 2047.
- [355] Appel E.A., Biedermann F., Rauwald U., Jones S.T., Zayed J.M., Scherman O.A., 2010. Supramolecular Cross-Linked Networks via Host-Guest Complexation with Cucurbit[8]uril. *J. Am. Chem. Soc.* 132, 14251.
- [356] Percec V., Won B.C., Peterca M., Heiney P.A., 2007. Expanding the structural diversity of self-assembling dendrons and supramolecular dendrimers via complex building blocks. *J. Am. Chem. Soc.* 129, 11265.
- [357] Manna J., Kuehl C.J., Whiteford J.A., Stang P.J., 1997. Preparation, via double oxidative addition, and characterization of bimetallic platinum and palladium complexes: Unique building blocks for supramolecular macrocycles. C-13 NMR analysis of the nature of the palladium-carbon Bond. *Organometallics.* 16, 1897.
- [358] Krois D., Brinker U.H., 1998. Induced circular dichroism and UV-vis absorption spectroscopy of cyclodextrin inclusion complexes: Structural elucidation of supramolecular azi-adamantane (spiro[adamantane-2,3'-diazirine]). *J. Am. Chem. Soc.* 120, 11627.

- [359] Baytekin B., Baytekin T., Schalley C.A., 2006. Mass Spectrometric Studies of Noncovalent Compounds: Why Supramolecular Chemistry in the Gas Phase? *Org. Biomol. Chem.* 4, 2825.
- [360] Sakamoto S., Yoshizawa M., Kusakawa T., Fujita M., Yamaguchi K., 2001. Characterization of Encapsulating Supramolecular by Using CSI-MS with Ionization-Promoting Reagents. *Org. Lett.* 3, 1601.
- [361] Barbara J.E., Eyler J.R., Powell D.H., 2008. Reactive Desorption Electrospray Ionization for Rapid Screening of Guests for Supramolecular Inclusion Complexes. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 22, 4121.
- [362] Schalley C.A., Ghosh P., Engeser M., 2004. Mass Spectrometric Evidence for Catenanes and Rotaxanes from Negative-ESI FT-ICR Tandem-MS Experiments. *Int. J. Mass Spectrom.* 232, 249.
- [363] Engeser M., Rang A., Ferrer M., Gutierrez A., Baytekin H.T., Schalley C.A., 2006. Reactivity of Self-Assembled Supramolecular Complexes in the Gas Phase: A Supramolecular Neighbor Group Effect. *Int. J. Mass Spectrom.* 255, 185.
- [364] Schafer M., Schmuck C., Heil M., Cooper H.J., Hendrickson C.L., Chalmers M.J., Marshall A.G., 2003. Determination of the Activation Energy for Unimolecular Dissociation of a Noncovalent Gas-Phase Peptide: Substrate Complex by Infrared Multiphoton Dissociation Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 17, 1282.
- [365] Brusilowskij B., Neubacher S., Schalley C.A., 2009. A Double Intramolecular Cage Contraction Within a Self-Assembled Metallo-Supramolecular Bowl. *Chem. Comm.* 785.
- [366] Schnier P.D., Klassen J.S., Strittmatter E.E., Williams E.R., 1998. Activation Energies for Dissociation of Double Strand Oligonucleotides Anions: Evidence for Watson-Crick Pairing In Vacuo. *J. Am. Chem. Soc.* 120, 9605.
- [367] Hannon M.J., Painting C.L., Alcock N.W., 1999. A Metallo-Supramolecular Double-Helix Containing a Major and Minor Groove. *Chem. Comm.* 2023.
- [368] Childs L.J., Pascu M., Clarke A.J., Alcock N.W., Hannon M.J., 2004. Using Noncovalent Intra-Strand and Inter-Strand Interactions to Prescribe Helix Formation Within a Metallo-Supramolecular System. *Chem. Eur. J.* 10, 4291.
- [369] Childs L.J., Malina J., Rolfes B.E., Pascu M., Prieto M.J., Broome M.J., Rodger P. M., Sletten E., Moreno V., Rodger A., Hannon M.J., 2006. A DNA-Binding Copper(i) Metallosupramolecular Cylinder that Acts as an Artificial Nuclease. *Chem. Eur. J.* 12, 4919.
- [370] Olesky A., Blanco A.G., Boer R., Uson I., Aymami J., Rodger A., Hannon M.J., Coll M., 2006. Molecular Recognition of a Three-Way DNA Junction by a Supramolecular Helicate. *Angew. Chem. Intl. Ed.* 45, 1227.

- [371] Pascu G. I., Hotze A.C.G., Sanchez-Cano C., Kariuki B.M., Hannon M.J., 2007. Dinuclear Ruthenium (II) Triple-Stranded Helicates: Luminescent Supramolecular Cylinders that Bind and Coil DNA and Exhibit Activity Against Cancer Cell Lines. *Angew. Chem. Intl. Ed.* 46, 4374.
- [372] Mosely J.A., Murray B.S., Parker D., 2009. ECD and CID of Lanthanide Metal-Ligand Complexes and Lanthanide Metal-Ligand Complexes Bound to Phosphopeptides. *Eur. J. Mass Spectrom.* 15, 145.
- [373] Liu K., Wagner A., 1995. The chemical dynamics and kinetics of small radicals. Parts I and II, World Scientific, Singapore.
- [374] Rao C.N.R., 1995. Transition Metal Oxides., VCH, New York,.
- [375] Anderson J.R., Boudart M., 1984. Catalysis: Science and Technology Springer-Verlag, Berlin.
- [376] Hirao T., 1997. Vanadium in modern organic synthesis. *Chem. Rev.* 97, 2707.
- [377] Grzybowska-Swierkosz B., Trifiro F., 1997. Vanadia catalysts for selective oxidation of hydrocarbons and their derivatives – Preface., *Appl. Catal. A- General.* 157, 1.
- [378] Ramirez R., Casal B., Utrera L., Ruiz-Hitzky E., 1990. Oxygen reactivity in vanadium pentoxide: electronic structure and infrared spectroscopy studiem. *J. Phys. Chem.* 94, 8960.
- [379] Chen S.Y., Willcox D., 1993. Effect of vanadium oxide loading on the selective oxidation of methane over vanadium oxide (V₂O₅)/silica. *Ind. Eng. Chem. Res.* 32, 584.
- [380] Weckhuysen B.M., Keller D.E., 2003. Chemistry, spectroscopy and the role of supported vanadium oxides in heterogeneous catalysis. *Catal. Today.* 78, 25.
- [381] *Appl. Catal. A*, 1997, 157, całe wydanie dotyczy tematu.
- [382] Davies J.A., Watson P.L., Liebman J.F., Greenberg A., (Eds.), 1990. Selective Hydrocarbon Activation, Principles and Progress. VCH, New York.
- [383] Yoshizawa K., Shiota Y., Yamabe T., 1997. Reaction paths for the conversion of methane to methanol catalyzed by FeO⁺. *Chem. Eur. J.* 3, 1160.
- [384] Schroder D., Schwarz H., Shaik S., 2000. In Metal-Oxo and Metal-Peroxo Species in Catalytic Oxidations (Ed. B. Meunier), Structure and Bonding, Springer, Berlin. 97, 91.
- [385] Poli R., Harvey J.N., 2003. Spin forbidden chemical reactions of transition metal compounds. New ideas and new computational challenges. *Chem. Soc. Rev.* 32, 1.
- [386] Schwarz H., 2004. On the spin-forbiddenness of gas-phase ion-molecule reactions: a fruitful intersection of experimental and computational studies. *Int. J. Mass Spectrom.* 237, 75.
- [387] Mercero J.M., Matxain J.M., Lopez X., York D.M., Largo A., Eriksson L.A., Ugalde J.M., 2005. Theoretical methods that help understanding the structure and reactivity of gas phase ions. *Int. J. Mass Spectrom.* 240, 37.

- [388] Engeser M., Schroder D., Schwarz H., 2005. Gas-phase dehydrogenation of methanol with mononuclear vanadium-oxide cations. *Chem. Eur. J.* 11, 5975.
- [389] Bell R.C., Castleman A.W., 2002. Reactions of vanadium oxide cluster ions with 1,3-butadiene and isomers of butane. *J. Phys. Chem. A.* 106, 9893.
- [390] Schroder D., Engeser M., Bronstrup M., Daniel C., Spandl J., Hartl H., 2003. Ion chemistry of the hexanuclear methoxo-oxovanadium cluster $V_6O_7(OCH_3)(12)$. *Int. J. Mass Spectrom.* 228, 743.
- [391] Engeser M., Schlangen M., Schroder D., Schwarz H., 2003. Alkane oxidation by VO_2^+ in the gas phase: A unique dependence of reactivity on the chain length. *Organometallics.* 22, 3933.
- [392] Deng L., Ziegler T., 1996. Density functional study of C-H and O-H bond activation by transition metal d(0)-oxo complexes .1. Thermodynamic considerations. *Organometallics.* 15, 3011.
- [393] Schroder D., Loos J., Engeser M., Schwarz H., Jankowiak H.C., Berger R., Thissen R., Dutuit O., Dobler J., Sauer J., 2004. Ion chemistry of $OV(OCH_3)(3)$ in the gas phase: Molecular cations and anions and their primary fragmentations. *Inorg. Chem.* 43, 1976.
- [394] Coulston G.W., Bare S.R., Kung H., Birkeland K., Bethke G.K., Harlow R., Herron N., Lee P.L., 1997. The kinetic significance of V_5^+ in n-butane oxidation catalyzed by vanadium phosphates. *Science.* 275, 191.
- [395] Kubias B., Rodemerck U., Zanthoff H.W., Meisel M., 1996. The reaction network of the selective oxidation of n-butane on $(VO)(2)P_2O_7$ catalysts: Nature of oxygen containing intermediates. *Catal. Today.* 32, 243.
- [396] Feyel S., Schröder D., Schwarz H., 2006. Gas-phase oxidation of isomeric butenes and small alkanes by vanadium-oxide and -hydroxide cluster cations. *J. Phys. Chem. A.* 110, 2647.
- [397] Moore N.A., Mitric R., Justes D.R., Bonacic-Koutecky V., Castleman A.W., 2006. Kinetic analysis of the reaction between $(V_2O_5)(n) = 1,2(+)$ and ethylene. *J. Phys. Chem. B.* 110, 3015.
- [398] Feyel S., Schröder D., Rozanska X., Sauer J., Schwarz H., 2006. Gas-phase oxidation of propane and 1-butene with $[V_3O_7](+)$: Experiment and theory in concert. *Angew. Chem. Int. Ed.* 45, 4677.
- [399] Feyel S., Döbler J., Schröder D., Sauer J., Schwarz H. 2006. Thermal activation of methane by tetranuclear $[V_4O_{10}](+)$. *Angew. Chem. Int. Ed.* 45, 4681.
- [400] Schröder D., Schwarz H., 1990. Iron(II)-Mediated Hydride and Methanide Transfer to Carbonyl Groups. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 29, 910.
- [401] Fiedler A., Schröder D., Schwarz H., Tjelta B. L., Armentrout P.B., 1996. "Bare" iron methoxide cation: A simple model to probe the mechanism of beta-hydrogen transfer in organometallic compounds. *J. Am. Chem. Soc.* 118, 5047.
- [402] Schröder D., Schwarz H., Polarz S., Driess M., 2005. Consecutive fragmentations of the cubane-like zinc cluster $[CH_3Zn(O-i-C_3H_7)](4)$ upon electron ionization. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 7, 1049.

STRESZCZENIE

Metody tandemowej spektrometrii mas, zarówno tradycyjne, oparte na fragmentacji jonów na skutek ich oddziaływania z cząsteczkami gazów obojętnych (CID), jak i nowe, w których badany jon ulega dysocjacji w wyniku oddziaływania z elektronem (ECD, EDD, EID), wzbudzają duże zainteresowanie naukowców jako stosunkowo proste techniki stosowane do identyfikacji oraz ustalania struktury prostych związków chemicznych. Istnieje jednak szereg przykładów zastosowania metod MS/MS, których wynikiem było, mimo potencjalnych możliwości analitycznych technik tandemowej spektrometrii mas, uzyskanie bardzo ubogich informacji na temat budowy cząsteczek związków chemicznych. Najczęściej wynikało to z wykorzystania niewłaściwej dla danego związku chemicznego metody fragmentacji.

W opracowaniu przedstawiono wyniki badania budowy różnych związków chemicznych, takich jak dendrymery PAMAM, kompleksy, jakie tworzą z jonami metali, polifosfoestry, oktaetyloporfiryne oraz jej kompleks z żelazem(III), trójjądrowe kompleksy żelaza o wzorze $[M_3O(O_2CR)_6L_3]^+$, kompleksy supramolekularne oraz dwa typy kompleksów wanadu: alkoksylowe oraz zawierające ligand kwasu dikarboksylowego, za pomocą wybranych metod tandemowej spektrometrii mas. Rezultaty badań świadczą o tym, że właściwy dobór metody fragmentacji ma zasadnicze znaczenie i decydujący wpływ na uzyskane dane strukturalne. Często pełnych informacji o budowie cząsteczki dostarcza tylko kombinacja dwóch różnych metod MS/MS.

Do badania budowy jonów dendrymerów PAMAM różniących się zarówno liczbą generacji, jak i rodzajem grup powierzchniowych oraz kompleksów dendrymeru drugiej generacji z jonami metali Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} zastosowano metody oparte na oddziaływaniu jonu obdarzonego ładunkiem wielokrotnym z elektronami o niewielkiej energii: ECD lub EDD, oraz metody CID. Procesy fragmentacji ECD/EDD przebiegają w wewnętrznych generacjach jonów molekularnych i są niezależne od rodzaju grup powierzchniowych. Natomiast procesy fragmentacji CID mają miejsce w zewnętrznych partiach jonów dendrymerów i są bogatym źródłem informacji na temat rodzaju oraz budowy zewnętrznych generacji oraz grup powierzchniowych. Jedynie wykorzystanie kombinacji tych dwóch rodzajów technik prowadzi do uzyskania pełnych informacji na temat budowy wewnętrznych i zewnętrznych generacji cząsteczek polimeru PAMAM, rodzaju i liczby grup powierzchniowych, miejsca i sposobu koordynacji jonów metalu w cząsteczce ligandu. Kombinację metod ECD i CID zastosowano również do badania procesów degradacji i budowy polifosfoestru. Wyniki doświadczeń dostarczają uzupełniających się wzajemnie, szczegółowych danych na temat struktury tego złożonego związku chemicznego. Metody MS^2 (CID, ECD, IRMPD) oraz MS^3 (SORI-CID, ECD, IRMPD) wykorzystano do badania struktury kompleksów supramolekularnych żelaza zawierających potrójne/podwójne helikaty. Uzyskane wyniki są dobrym źródłem informacji na temat budowy ligandów, stechiometrii kompleksów oraz sposobu powiązania

ligandów z centralnymi jonami metali. Analiza budowy jonów oktaetyloporfiryryny i jej kompleksów z żelazem(III) oraz trójjądrowych kompleksów żelaza $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6]^+$ i $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{HCOO})_6 + \text{H}_2\text{O}]^+$ za pomocą metod tandemowej spektrometrii mas EID i CID pozwala wnioskować, że w przypadku tych związków jedynie metoda oparta na oddziaływaniu jon-elektron (EID) dostarcza szczegółowych informacji na temat struktury związków. Dla kontrastu wyniki badania struktury kompleksów wanadu(V) typu: $[(\text{L})\text{V}(\text{OR}^1)(\text{OR}^2)]^+$, gdzie L stanowi ligand katecholowy oraz $[(\text{XCOO})_2\text{VO}(\text{C}, \text{H}_4, \text{O})]^+$, gdzie X = CH lub CH_2 przy zastosowaniu metody CID wyraźnie dowodzą, że technika ta jest źródłem informacji zarówno o budowie ligandów kompleksów jak i sposobie połączenia tych ligandów z centralnym metalem wanadu(V).

Wyniki zaprezentowane w opracowaniu potwierdzają tezę, że właściwie dobrane metody tandemowej spektrometrii mas mogą być doskonałym narzędziem służącym do badania budowy tak złożonych i różnych związków chemicznych, jak: dendrymery PAMAM, ich kompleksy z jonami metali, polifosfoestry, porfiryryny i jej kompleksy z żelazem(III), trójjądrowe kompleksy żelaza typu $[\text{M}_3\text{O}(\text{O}_2\text{CR})_6\text{L}_3]^+$, kompleksy supramolekularne oraz alkoksylowe i zawierające ligand kwasu dikarboksylowego kompleksy wanadu.

SUMMARY

Tandem mass spectrometry (MS/MS) methods, both traditional such as collision induced dissociation (CID) and new, based on electron-ion interactions (ECD, EDD, EID) have been used for identification and elucidation of molecular structure of different chemical compounds. However there are a number of examples, where despite potential analytical possibilities of tandem mass spectrometry techniques, very poor structural information has been obtained. Usually it was a result of application of unsuitable for examined chemical compound fragmentation method.

Presented here results of application of chosen tandem mass spectrometry methods for the structural elucidation of various ions of species such as: polyamidoamine (PAMAM) dendrimers, metal complexes of PAMAM dendrimers, polyphosphoesters, octaethylporphyrin (OEP) and complex of OEP with iron (III), trinuclear oxo-centered carboxylate bridged iron complexes, supramolecular complexes and two types of vanadium complexes; alkoxo(catecholato) vanadium(V) and complexes containing one molecule of C4-dicarboxylic acid, clearly show that the choice of used fragmentation technique has fundamental significance and crucial impact on obtained structural data. In some cases only combination of two different fragmentation methods provides full information about structure of examined species.

PAMAM dendrimers, which differ by the number of generations and nature of the surface groups and complexes of metal ions Fe^{3+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Ag^{+} with PAMAM dendrimer, which contain two generations and amidoethanol surface groups have been studied by electron mediated dissociation (ECD, EDD) and collision induced dissociation (CID) methods. The ECD and EDD processes are independent of the nature of surface groups, but tend to occur within the innermost generations. In contrast the CID processes tends to occur in outermost generations and are strongly dependant of the surface groups. Full and detailed information about number of generations and surface groups of PAMAM dendrimers, location of metal ions in dendrimer system and the way of metal ions coordination can be obtained only by application of combination of these two techniques (ECD/EDD and CID). Results presented here show that combination of ECD and CID methods is also suitable for the structural analysis of polyphosphoesters and their degradation products. Tandem mass spectrometry methods MS^2 (CID, ECD, IRMPD) and MS^3 (SORI-CID, ECD, IRMPD) have been applied for the structural elucidation of metallo-supramolecular double and triple-stranded helicates. Obtained results provide information about ligand structures, stoichiometry of complexes and way of coordination of metal centers. Analysis of the structure of octaethylporphyrin, its iron (III) complex and of trinuclear oxo-centered carboxylate-bridged iron complexes by tandem mass spectrometry methods (CID and EID) leads to conclusion that only EID method is suitable analytical tool for these chemical compounds, results of CID experiments provide very poor structural information. In contrast, application of

CID method for the structural elucidation of two types of vanadium(V) complexes: $[(L)V(OR^1)(OR^2)]^+$, where $L = C_6H_4O_2$, and $[(XCOO)_2VO(C, H_4, O)]^+$, where $X = CH$ or CH_2 , permit to gain information of the structure and number of ligands and the way of coordination of ligands to the central metal ion.

Results presented here show that tandem mass spectrometry methods can be successfully used for the structural elucidation of different types of complex chemical compounds such as: PAMAM dendrimers and their metal complexes, polyphosphoesters, porphyrins, complexes of iron with porphyrins, trinuclear oxo-centered carboxylate-bridged iron complexes, metallo-supramolecular complexes, vanadium complexes. However choice of used fragmentation technique has fundamental significance and crucial impact on obtained structural data.