

UNIVERZITA KARLOVA
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Mikuláš Vlk

MS charakterizace komplexů rhenia

MS Characterization of Rhenium complexes

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Martin Štícha, Ph.D.

Konzultant: doc. RNDr. Ivan Jelínek, CSc.

Praha 2018

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Jsem si vědom toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 18. května 2018

Poděkování

Rád bych poděkoval vedoucímu mé bakalářské práce RNDr. Martinu Štíchovi, Ph.D. a konzultantovi doc. RNDr. Ivanu Jelínkovi, CSc. za odborné vedení, vstřícnost a cenné rady při měření a zpracování této práce.

Abstrakt

Komplexy rhenia s organickými ligandy jsou díky svým radiochemickým vlastnostem perspektivní pro nukleární medicínu. Nachází široké využití v radiodiagnostice a paliativní léčbě. Pro použití v klinické praxi je však nutná jejich podrobná charakterizace a dostupnost vhodných analytických metod pro ověření jejich čistoty. V této práci byly připraveny a pomocí HRMS charakterizovány vybrané komplexy rhenia s 1,2-dihydroxybenzenem, 4-methyl-1,2-dihydroxybenzenem a 2,3-dihydroxynaftalenem. U připravených komplexů byly studovány fragmentační mechanismy k jejichž pochopení výrazně přispěly experimenty uskutečněné v kolizní cele.

Klíčová slova

Komplexy rhenia, katechol, 2,3-dihydroxynaftalen, methylkatechol, hmotnostní spektrometrie, ESI-MS, CID, kolizně indukovaná disociace

Abstract

Ideal radiochemical properties make rhenium complexes coordinated with suitable organic ligands relevant for use in nuclear medicine. They find a wide range of uses as diagnostic and palliative agents. However, detailed characterization and availability of suitable analytical methods is needed for use in clinical practice. Rhenium complexes with 1,2-dihydroxybenzene, 4-methyl-1,2-dihydroxybenzene and 2,3-dihydroxynaphthalene were prepared and characterized by HRMS. Fragmentation mechanisms of the complexes were studied using information gathered from collision cell experiments.

Keywords

Rhenium complexes, catechol, 2,3-dihydroxynaphthalene, methylcatechol, mass spectrometry, ESI-MS, CID, collision-induced-dissociation,

Obsah

1. Cíl práce	7
2. Teoretická část	8
2.1. Nukleární medicína.....	8
2.2. Rhenium	8
2.2.1. Komplexní sloučeniny rhenia	10
2.3. Hmotnostní spektrometrie	13
2.3.1. ESI.....	13
2.3.2. Tandemová hmotnostní spektrometrie	15
2.3.2.1. CID – kolizně indukovaná disociace	15
3. Praktická část	18
3.1. Použité chemikálie.....	18
3.2. Přístroje a programy	18
3.3. Příprava komplexů.....	18
3.4. Podmínky měření.....	19
4. Diskuze	20
5. Závěr	28
6. Použitá literatura	29
7. Přílohy.....	32
7.1. Příloha A – MS/MS spektra studovaných komplexů	32

Seznam použitých zkratk

cat	katechol (1,2-dihydroxybenzen)
CA	collisional activation – kolizní aktivace
CAD	collisionally activated dissociation – kolizně aktivovaná disociace
<i>CE</i>	collision energy – laboratorní kolizní energie
CID	collision induced dissociation – kolizně indukovaná disociace
CRM	charge residue model – model zbytkového náboje
DHN	dihydroxynaftalen (2,3-dihydroxynaftalen)
DHT	dihydroxytoluen (4-methyl-1,2-dihydroxybenzen)
<i>E_{CM}</i>	center of mass energy – těžišťová kolizní energie
ESI	electrospray ionisation – ionizace elektrosprejem
FAB	fast atom bombardment – ionizace urychlenými atomy
HRMS	high resolution mass spectrometry – hmotnostní spektrometrie s vysokou rozlišovací schopností
IDM	ion desorption model – model vypaření iontu
IR	infrared spectroscopy – infračervená spektroskopie
NM	nukleární medicína
NMR	nukleární magnetická rezonance
PES	photoemission spectroscopy – fotoelektronová spektroskopie
SIMS	secondary ion mass spectrometry – hmotnostní spektroskopie sekundárních iontů
TEA	triethylamin
TOF	time of flight – hmotnostní analyzátor doby letu
Q	kvadrupól, kvadrupólový analyzátor

1. Cíl práce

Příprava komplexů rhenia s vybranými aromatickými alkoholy (1,2-dihydroxybenzen, 2,3-dihydroxynaftalen a 4-methyl-1,2-dihydroxybenzen) a jejich charakterizace pomocí ESI-MS s vysokým rozlišením.

2. Teoretická část

2.1. Nukleární medicína

Nukleární medicína je lékařský obor, který k diagnóze a terapii chorob používá radioaktivní látky (radiofarmaka). V minulosti byl výzkum zaměřen na technecium a rhenium [1]. Oba prvky mají téměř identické chemické vlastnosti, vyskytují se v široké škále oxidačních stavů od -1 do +7 a jsou schopny tvořit komplexy s organickými i anorganickými ligandy [2, 3].

Externě aplikovaná radiace se hojně využívá pro úlevu od bolesti. To je ale těžko proveditelné v případech, kdy jsou metastázy rozšířeny skrze kosterní strukturu. Tím bylo podníceno hledání β -emitujících radiofarmak, které lze zacílit do kostních lézí. Rhenium je jedním z radioaktivních prvků, které jsou v této souvislosti zkoumány. Mezi paliativní prostředky pro zmírnění bolesti kostí patří například radiofarmaka založená na rheniu a bisfosfonátových ligandech. Přesný mechanismus, kterým je bolest kostí snížena, není známý, ale klinické studie prokázaly pozitivní přínos [1, 4].

Dostupnost analytických metod vhodných pro identifikaci a kvantifikaci komplexů přechodných kovů je nezbytná prerekvizita pro chemické a farmakologické charakterizování radiofarmak. Běžně používaná rentgenová difrakce, nukleární magnetická rezonance (NMR) a infračervená spektroskopie (IR) obvykle poskytují detailní informace o struktuře, ale mají vysokou spotřebu vzorku. Hmotnostní spektrometrie je vynikající metodou pro kvantifikaci a objasnění struktury analytů ve stopových koncentracích srovnatelnými s běžnými terapeutickými hladinami [5].

2.2. Rhenium

Rhenium poprvé detekovali Noddack, Tacke a Berg v rentgenovém spektru v roce 1925 a bylo objeveno jako poslední ze stabilních prvků. Patří mezi nejvzácnější prvky v zemské kůře a ve sluneční soustavě. V přírodě neexistuje místo s dostatečně zvýšenou koncentrací rhenia, aby se ekonomicky vyplatila jeho těžba. Jediný komerční zdroj je v podobě vedlejšího produktu molybdenového průmyslu. Je získáváno z vodných extraktů selektivní adsorpcí ReO_4^- na iontoměnič nebo extrakcí rozpouštědlem, poté je vysráženo ve formě NH_4ReO_4 nebo Re_2S_7 . Světové zásoby rhenia se odhadují na 1000

tun, z toho 70 % se nachází v U. S. A. a 20–25 % v Chile. Přirozeně se vyskytuje jako směs izotopů ^{185}Re (37,4 %) a ^{187}Re (62,6 %) [6].

Běžným výchozím materiálem pro přípravu koordinačních komplexů s organickými ligandy je rhenistan $[\text{ReO}_4]^-$. Jeho schopnost koordinovat organické ligandy a tvořit stabilní komplexy je ale nedostatečná. Před utvořením komplexu musí být selektivně redukován. Stále ještě nebyla nalezena spolehlivá a reprodukovatelná cesta přípravy komplexů rhenia s vhodnými chemickými a farmakologickými vlastnosti jako majoritního produktu reakce [7]. Byl popsán úspěšný pokus o odstranění redukčního kroku a navázání rhenistanového iontu v komplexu s porfyrinem [8], ale jeho klinická perspektiva nebyla dosud prostudována.

Mezi radioaktivní izotopy rhenia patří dva β -zářiče, ^{186}Re a ^{188}Re (viz tabulka 1), které mají potenciál pro využití v nukleární medicíně. Jimi emitované částice mají vhodné energie pro zabíjení rakovinných buněk a γ emise umožňuje monitorování distribuce a účinnosti léčby. ^{186}Re je pro jeho dosah 5 mm vhodnější na malé nádory, zatímco izotop ^{188}Re je s 11 mm vhodnější spíše pro větší masy. Příznivé jaderné charakteristiky těchto radionuklidů jsou důvodem pro jejich klinické využití. ^{186}Re se vyrábí ozařováním ^{185}Re neutrony a je tedy vždy kontaminován tímto neradioaktivním izotopem. ^{188}Re vzniká rozpadem radioaktivního ^{188}W a pro výrobu existují dva typy generátorů. První je založený na adsorpci wolframanu sodného na koloně plněné oxidem hlinitým. Pro eluci rhenistanu lze použít fyziologický roztok. Druhý typ generátoru je gelový. Gel je vytvořen koprecipitací ^{188}W s hydroxidem zirkoničitým, následně umístěn do kolony a ^{188}Re je opět vymýváno fyziologickým roztokem [9]. Generátor s ^{188}W o aktivitě 0,5 Ci má potenciál poskytovat terapeutickou léčbu až stovkám pacientů během jeho 2-6 měsíční životnosti. Hlavní nevýhodou radioizotopu ^{188}Re pro terapeutické aplikace je relativně krátký poločas rozpadu. V biologických podmínkách je rhenistan, který je nejstabilnější formou rhenia, rychle vylučován ledvinami, což zabraňuje akumulaci a radiologickému nebezpečí pro ostatní necílové tkáně [1, 8, 10].

Tabulka 1 – Radionuklidy rhenia a jejich vlastnosti [1]

Izotop	Poločas rozpadu	Emitovaná energie	Výroba	Prostup tkáněmi
^{186}Re	90 h	β 1,07 MeV γ 137 keV	reaktor	5 mm
^{188}Re	17 h	β 2,1 MeV γ 155 keV	$^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$ generátor	11 mm

Lanthanoidová kontrakce způsobuje, že komplexy rhenia a technecia mají velmi podobné fyzikální vlastnosti (lipofilita, velikost apod.). Komplexy rhenia se však oproti techneciui výrazně jednodušeji oxidují (obtěžněji redukuje). Díky tomu je relativně jednoduchá a běžná in vivo oxidace na $[\text{ReO}_4]^-$. To může být výhodou, protože je možná jednoduchá eliminace radioaktivního izotopu pomocí ledvin [1, 10].

2.2.1. Komplexní sloučeniny rhenia

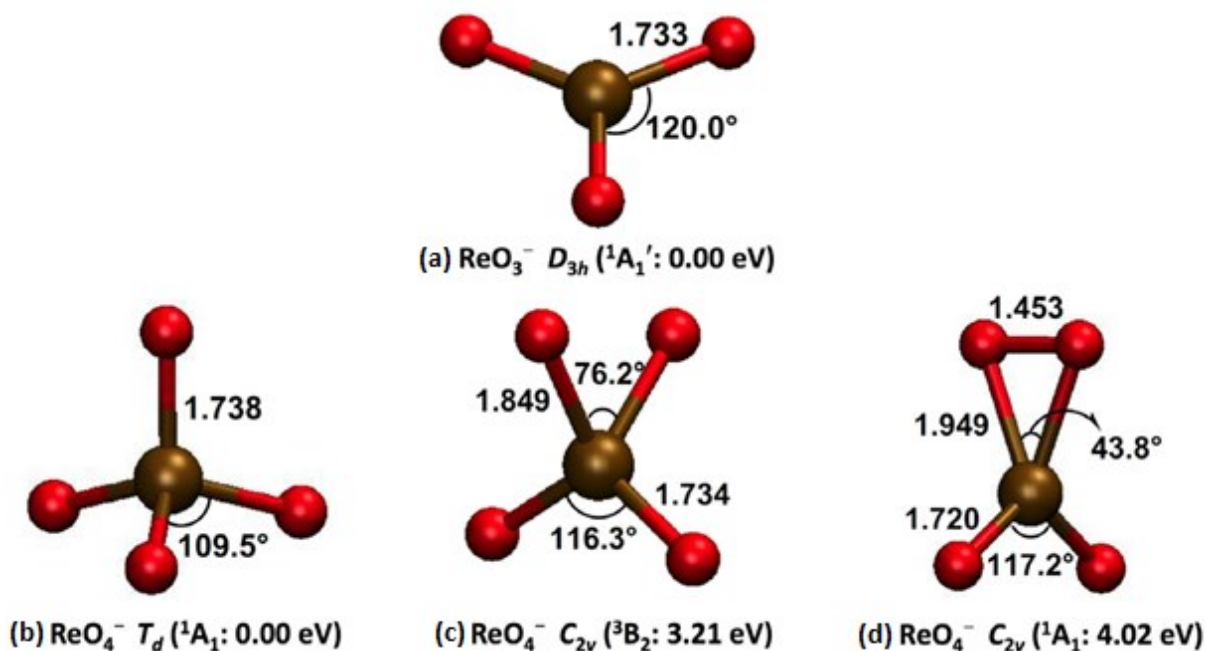
Mnoho studií bylo v minulosti zaměřeno na charakterizaci anorganických solí a organických komplexů rhenia. Velká pozornost byla věnována oxoaniontům pro jejich využití v průmyslu i medicíně. Například existence neprotonovaného iontu $[\text{ReO}_4]^-$ byla potvrzena pomocí ESI-TOF v kyselých i zásaditých roztocích rhenistanu amonného [11].

Hand a kol. [12] studovali rhenistanové soli ve formě $[\text{AReO}_4]$ (kde $\text{A} = \text{NH}_4^+$ nebo alkalický kov) pomocí hmotnostní spektrometrie sekundárních iontů (SIMS). Ve všech systémech s alkalickým kovem pozorovali anionty $[\text{ReO}_3]^-$ a $[\text{ReO}_4]^-$. Relativní zastoupení těchto iontů ve spektru se dramaticky lišilo v závislosti na přítomném kationtu. Lithné a amonné soli LiReO_4 a NH_4ReO_4 vykazovaly vysoké zastoupení ReO_3^- , zatímco ostatní NaReO_4 , KReO_4 a RbReO_4 velmi nízké. Autoři předpokládali, že by časová závislost poměru $[\text{ReO}_3]^-/[\text{ReO}_4]^-$ mohla souviset s mezifázovou reakcí.

Další studií zabývající se rhenistanovými solemi (KReO_4 , NaReO_4 a NH_4ReO_4) je práce Sahureky a kol. [13]. Zjistili, že při napětí na kapiláře -20 V byl přítomen pouze iont $[\text{ReO}_4]^-$. Při zvyšujícím se napětí se jeho zastoupení snižovalo ve prospěch iontu $[\text{ReO}_3]^-$ (-60 až -175 V) a při napětí -145 až -170 V se začal objevovat i iont $[\text{ReO}_2]^-$. To naznačuje, že v matici byl přítomen pouze iont $[\text{ReO}_4]^-$ a oba zbylé ionty vznikaly procesem kolizně indukované disociace CID (CAD). Dále bylo konstatováno, že při

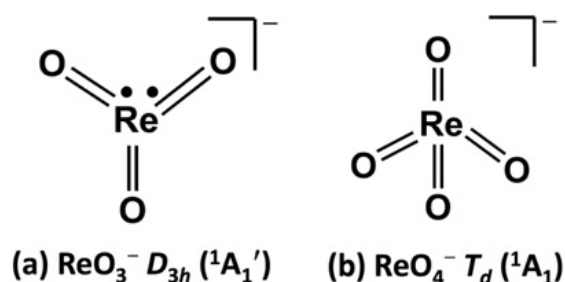
tvorbě iontu $[\text{ReO}_3]^-$, který vzniká ztrátou kyslíku, dochází ke změně oxidačního stavu rhenia. Fragment $[\text{ReO}_2]^-$ byl pozorován pouze ve spektru NH_4ReO_4 a to jen při koncentracích vyšších než $10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$.

Pomocí fotoelektronové spektroskopie (PES) byly objasněny struktury iontů ReO_4^- a ReO_3^- . Struktury byly také vypočítány na základě hustotní funkce B3LYP (viz obrázek 1). Ion ReO_3^- patří do grupy symetrie D_{3h} a ReO_4^- do grupy T_d (viz obrázek 1). Dále existuje singletová struktura ReO_4^- s energií o 4,02 eV vyšší, kde jsou dva atomy kyslíku spojeny peroxidovou (O-O) vazbou (viz obrázek 1d) [14].



Obrázek 1 – Struktury iontů ReO_n^- ($n=3,4$) s minimální energií získané hustotní funkcí B3LYP. Převzato a upraveno z [14].

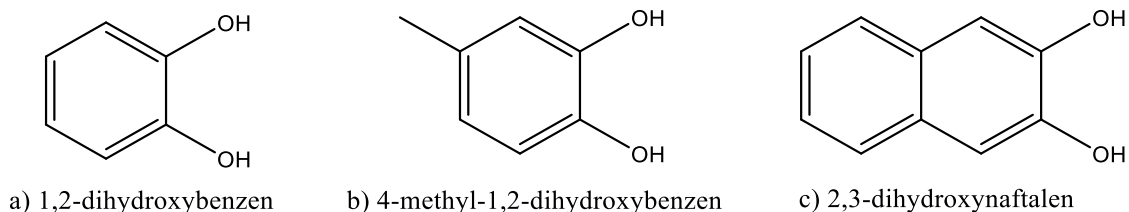
Lokalizované 5d elektrony rhenia mohou být snadno přeneseny do π orbitalů molekul kyslíku. Popis valenčních vazeb ReO_n^- klastrů nabízí obrázek 2.



Obrázek 2 – Struktury iontů ReO_n^- ($n=3,4$) s vyznačenými ne vazebnými páry elektronů. Převzato a upraveno z [14].

Teoreticky i experimentálně pomocí CID studoval oxidy rhenia velmi podrobně ve svých pracích také M. Beyer [15–17].

Doposud nebyla uveřejněna žádná práce hodnotící vliv ligandu na tvorbu $[\text{ReO}_4]^-$ resp. $[\text{ReO}_3]^-$ iontů při použití ESI-MS a kolizní disociace CID. Ve své práci jsem se zabýval studiem struktury mono-rhenium oxidových klastrů ReO_n vznikajících fragmentací komplexů rhenia s různými ligandy. Struktury použitých ligandů jsou zobrazeny na obrázku 3.

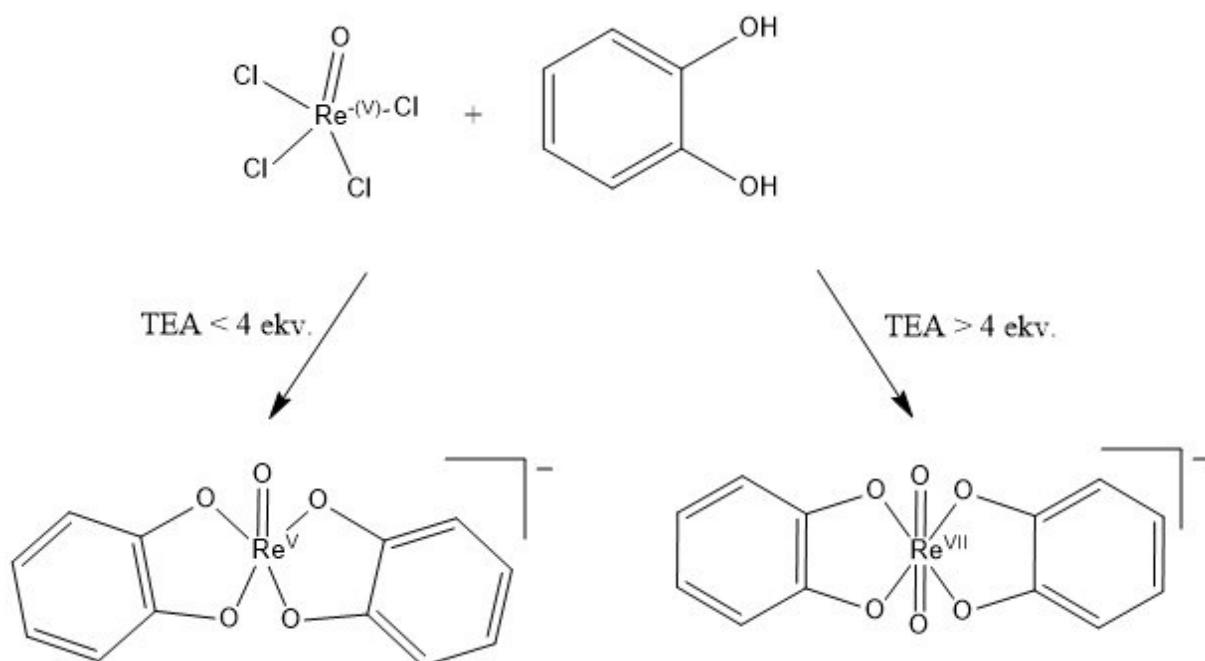


Obrázek 3 – Struktury ligandů použitých pro přípravu komplexů

Při přípravě komplexů z tetrabutylammonium tetrachlorooxorhenátu a příslušného ligandu v acetonitrilu má zásadní vliv na výsledný produkt a výtěžek množství přidaného triethylaminu TEA do reakční směsi. Při molárním nadbytku TEA větším, než čtyři ekvivalenty jsou výslednými produkty převážně dioxokomplexy $[\text{Re}^{\text{VII}}(\text{O})_2(\text{L})_2]^-$, kde rhenium vystupuje v nejvyšším oxidačním stupni. Nižší koncentrace TEA, než čtyři ekvivalenty vede ke snížení rychlosti reakce a vzniká nejprve komplex $[\text{Re}^{\text{V}}(\text{O})(\text{L})_2]^-$, který následně oxiduje na $[\text{Re}^{\text{VI}}(\text{O})(\text{L})_2]^0$ a dále

$[\text{Re}^{\text{VII}}(\text{O})_2(\text{L})_2]^-$. Nízká koncentrace TEA také zvyšuje pravděpodobnost reakcí, při kterých dojde k výměně ligandu za vzniku $[\text{Re}^{\text{VII}}(\text{O})\text{Cl}(\text{L})_2]^0$ [7].

Pro charakterizaci $[\text{Re}^{\text{V}}(\text{O})(\text{L})_2]^-$ a $[\text{Re}^{\text{VII}}(\text{O})_2(\text{L})_2]^-$ je vhodnější metoda s koncentrací TEA nižší než 4 ekvivalenty, protože oxidace je dostatečně pomalá, aby po dobu měření byla koncentrace obou komplexů téměř konstantní. Modelové schéma přípravy rheniových komplexů je na příkladu katecholového ligandu naznačeno na obrázku 4.



Obrázek 4 – Schéma reakcí mezi $[(n\text{-Bu}_4\text{N})(\text{ReOCl}_4)]$ a katecholem v prostředí s různou koncentrací TEA.

2.3. Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie je fyzikálně-chemická metoda k určení hmotností volných molekul a jejich částí po převedení na kladné nebo záporné ionty.

2.3.1. ESI

Ionizace elektrosprejem (ESI – electrospray ionization) je nejvýznamnější technika ze skupiny metod ionizace za atmosférického tlaku. Použití elektrospreje jako ionizační techniky poprvé popsali Yamashita a Fenn, kteří v roce 1984 propojili ESI

s kvadrupólovým hmotnostním analyzátozem [18, 19]. Jedná se o měkkou metodu ionizace sloužící k převedení iontů málo těkavých látek do plynné fáze [20]. Při ESI proudí kapalina kovovou kapilárou průtokem obvykle 1–10 $\mu\text{L}/\text{min}$ a je za atmosférického tlaku rozstříkována proti proudu ohřátého sušícího plynu, který pomáhá odpařit rozpouštědlo. Mezi kapilárou a elektrodou vzdálenou 1–2 cm je vloženo napětí 3–5 kV. Vzniklé pole má intenzitu v řádu $10^6 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$ a indukuje akumulaci náboje na povrchu kapaliny, který způsobí rozbití kapky a vznik menších kapek s vysokým nábojem. Tyto kapky jsou poté elektrostaticky vtahovány do vyhřívané kapiláry, kterou vstupují do hmotnostního analyzátoru [20–22]. Ve chvíli, kdy síla elektrického pole dosáhne kritické hodnoty, dochází ke vzniku tzv. Taylorova kuželu. Z jeho vrcholu vychází jemný proud kapaliny směrem k protielektrodě. Tento proud částic nemůže zůstat stabilní, protože se kapičky navzájem odpuzují coulombickými silami.

Když se z mikrometrové kapičky, která nese velký přebytek iontů jednoho náboje, odpařuje rozpouštědlo, hustota náboje na jejím povrchu se postupně zvyšuje. Ve chvíli, kdy elektrostatické odpuzivé síly přerostou síly povrchového napětí, dochází k rozpadu kapky. Chvíle, kdy dochází k tomuto jevu, se nazývá Rayleighův limit. Rayleighova rovnice [23] popisuje, za jakých podmínek dojde k vyrovnání elektrostatických sil a povrchového napětí, které drží kapku pohromadě [24].

Existují dva mechanismy popisující vznik iontu v plynné fázi z velmi malých a vysoce nabitých kapek. První mechanismus, nazvaný model zbytkového náboje (CRM – charge residue model), navrhli Dole a kolektiv [25]. V tomto modelu se kapky smršťují, až se díky nestabilitě mateřská kapka rozpadne na několik kapek malých. Ty se dále odpařují, dokud také nedosáhnou Rayleighova limitu. Tento proces se opakuje, až kapka obsahuje pouze jeden ion analytu. Druhým mechanismem je tzv. model vypaření iontu (IDM – ion desorption model), který navrhli Iribarne a Thomson [26]. V něm nejprve podstupují kapky stejný rozpad jako v CRM, ale dochází k desorpci iontu z kapky, která obsahuje mnoho dalších molekul rozpouštědla a rozpuštěných látek.

Použití hmotnostní spektrometrie bylo od představení ionizace elektrosprejem (ESI) výrazně rozšířeno v oblasti koordinačních sloučenin kovů a organokovových molekul [27, 28]. ESI-MS je efektivní analytická metoda, ideální také pro charakterizaci komplexů rhenia a technecia, které jsou využívány mimo jiné v nukleární medicíně NM [10]. V porovnání s ostatními metodami analýzy umožňuje citlivost ESI-

MS analýzu vzorku o mikromolárních koncentracích a je tedy vhodná pro klinické a farmakokinetické studie.

2.3.2. Tandemová hmotnostní spektrometrie

Tandemová hmotnostní spektrometrie zahrnuje řadu technik, kde je vybraný prekurzní ion podroben další fragmentaci a analýze vzniklých produktů. Rozlišujeme dvě koncepce přístrojového uspořádání. První z nich je tandemová spektrometrie v prostoru. V tomto případě jsou produktová spektra zaznamenávána pomocí dalšího připojeného hmotnostního analyzátoru, přičemž k fragmentaci dochází v odděleném meziprostoru nejčastěji označovaném jako kolizní cela. Do této kategorie patří zařízení označovaná jako TOF/TOF, QqQ a QqTOF. Druhý přístup označovaný jako tandemová hmotnostní spektrometrie v čase, kam patří QIT, LIT, FT-ICR, využívá pouze jednoho analyzátoru, který v časově ohraničených krocích provádí výběr prekurzního iontu, jeho aktivaci i analýzu rozpadových produktů [14].

2.3.2.1. CID – kolizně indukovaná disociace

V iontovém zdroji vznikají především ionty stabilní, jejichž doba života je delší než 10^{-4} s, což je dostačující k tomu, aby ionty prošly až do detektoru. V malé míře se objevují také ionty nestabilní, které se rozpadnou ještě v iontovém zdroji a také ionty metastabilní, které disociují až po urychlení. Ionty stabilní můžeme donutit k rozpadu zvýšením vnitřní energie pomocí monomolekulárních srážek. Přestože se kolize iontů s neutrálními atomy plynů nebo s molekulami zdají v rozporu s podmínkami vysokého vakua, je většina hmotnostních spektrometrů vybavena možností jejich studia. Základní a analytické studie proto využívají aktivační a reaktivní kolize v hmotnostním spektrometru. Nejvýznamnější kolizní technikou je kolizně indukovaná disociace (CID), pro kterou se také používají termíny kolizně aktivovaná disociace (CAD) a kolizní aktivace (CA). CID umožňuje fragmentaci iontů v plynné fázi, které jsou jinak perfektně stabilní. Díky tomu je CID zvláště užitečná pro objasnění struktury iontů s nízkou vnitřní energií, jako jsou ionty vzniklé měkkými ionizačními technikami [20].

Míra disociace fragmentovaných iontů může být kontrolována velikostí energie směřované do kolizní cely. Fragmentace vyžaduje zvýšení vnitřní energie molekuly, které je dosažené při procesu kolize. Fragments iontů mohou také vznikat při zvýšení

napětí na kapiláře v elektrospreji, kde je velikost vnitřní energie iontů upravována pomocí rozdílu potenciálů mezi elektrodami [29]. Fragmentace v elektrospreji poskytuje při porovnání čistých protonovaných molekul podobné výsledky jako fragmentace v kolizní cele přístrojů s trojitým kvadrupólem [30].

Prvním krokem v procesu CID je kolize mezi rychle se pohybujícím iontem a nehybným neutrálním cílem, která vede ke zvýšení vnitřní energie iontu. Ionť poté tuto nadbytečnou energii rychle redistribuuje mezi jeho vibračními módy, kterých je $3N - 6$ pro ionť s N nelineárními atomy. Výrazně pomalejším druhým krokem je rozpad iontu za vzniku výsledných iontů a neutrálních fragmentů. Veliké ionty je obtížnější fragmentovat, protože mají více vibračních módů, do kterých mohou přebytečnou energii uložit, což zmenšuje šanci, že dojde k fragmentaci. Lze definovat dva CID režimy – s nízkou energií (desítky elektronvoltů) a s vysokou energií (tisíce elektronvoltů). Kolize probíhající za nízkých energií jsou hůře reprodukovatelné a dochází k užší distribuci vnitřní energie. V těchto případech má větší vliv výběr kolizního plynu [19].

Při CID s nízkou energií prochází urychlený tok iontů prostorem, který je vyplněný terčovými molekulami nebo atomy plynu. U MS/MS přístrojů, jako je například QqTOF, tento prostor uzavírá radiofrekvenční kvadrupól, který se nazývá kolizní cela. Tento kvadrupól přesměrovává ionty, které se kvůli kolizi odchýlily od původní trajektorie zpět na správnou osu. I přesto však dochází ke ztrátám iontů, a proto je na vedení iontů vhodnější použití hexapólů a oktapólů.

Kolizní cela je od hmotnostního analyzátoru na obou stranách oddělena pomocí úzkých otvorů a je vyplněna inertním plynem. Ionty, které projdou prvním hmotnostním analyzátořem jsou fragmentovány a často rozptýleny po kolizi s molekulami inertního plynu. Poté jsou pomocí pole generovaného radiofrekvenčním kvadrupólem fokusovány zpět do optické dráhy, přeneseny do druhého hmotnostního analyzátoru (TOF) a následně detekovány [19, 21].

Ke zvýšení vnitřní energie dojde předáním kinetické energie při srážce rychle letícího iontu se statickými molekulami kolizního plynu. Množství předané energie závisí také na hmotnosti kolizního plynu, přičemž účinnost konverze se úměrně hmotnosti zvyšuje [31].

Maximální energie E_{cm} , která může být takto transformována je funkcí kinetické energie vybraného iontu a lze ji jako tzv. těžišťovou energii vypočítat z následujícího vztahu.

$$E_{cm} = E_{lab} \frac{M_t}{M_i + M_t}$$

kde M_i je hmotnost iontu; M_t je hmotnost terče a E_{lab} je kinetická energie udělená iontu

Za kinetickou energii E_{lab} se dosazují hodnoty tzv. laboratorní kolizní energie CE , která je nastavována v hmotnostním spektrometru.

3. Praktická část

3.1. Použité chemikálie

Tetrabutylammonium tetrachlorooxorhenát $[(n\text{-Bu}_4\text{-N})(\text{ReOCl}_4)]$ (98%) a triethylamin (TEA) byly zakoupeny od firmy Sigma-Aldrich (Gillingham, Dorset, UK). 1,2-dihydroxybenzen (99%), 2,3-dihydroxynaftalen (99%) a 4-methyl-1,2-dihydroxybenzen (99%) byly zakoupeny od firmy Alfa Aesar (Karlsruhe, Německo). Jako rozpouštědlo byl použit acetonitril pro HPLC, Fisher Scientific UK.

Dusík použitý jako sušící a rozprašující plyn byl vyroben generátorem dusíku MS-NGM 11 (Bruker Daltonics, Německo).

3.2. Přístroje a programy

Pevné sloučeniny byly váženy pomocí analytických vah Kern ALJ 220-4 (Kern & Sohn, Německo). Při přípravě komplexů bylo použito míchadlo Stuart SA8 (Cole-Parmer, UK).

Schémata, molekulární vzorce a teoretické hmoty všech sloučenin byly získány programy ChemSketch (ACD labs, Kanada), ChemDraw (PerkinElmer Informatics, USA) a IsotopePattern (Bruker Daltonics, Německo).

Hmotnostní spektra byla získána na přístroji Bruker QqTOF compact ovládaném pomocí softwaru Compass otofControl 4.0 (Build 60.11). K vyhodnocení naměřených spekter byl použit software Compass DataAnalysis 4.4 (Build 200.55.2969). Přístroj byl kalibrován na klastry mravenčanu sodného.

3.3. Příprava komplexů

Příprava katecholových komplexů, probíhala podle postupu publikovaném v literatuře [7] je zobrazeném na obrázku 4. Příprava komplexů s ostatními ligandy byla realizována analogickým způsobem.

Za laboratorní teploty byl ve 3 ml acetonitrilu rozpuštěn jeden ekvivalent tetrabutylammonium tetrachlorooxorhenátu $[(n\text{-Bu}_4\text{-N})(\text{ReOCl}_4)]$ a 2 ekvivalenty ligandu tak, aby výsledná koncentrace komplexu byla 3 mmol dm^{-3} . Směs byla míchána po dobu 10 min na míchadle. Dále byly přidány 2 ekvivalenty triethylaminu (10 % (v/v)

roztok TEA v acetonitrilu). Pro měření byly připravené roztoky ještě 100x naředěny acetonitrem na výslednou koncentraci $3 \mu\text{mol dm}^{-3}$.

3.4. Podmínky měření

Všechna MS měření na přístroji Bruker QqTOF compact probíhala v negativním módu při následujících podmínkách:

- Rychlost dávkování vzorku: $3 \mu\text{L}/\text{min}$
- Rozsah skenování: m/z 50 až m/z 1000
- Tlak zmlžovače: 0,3 Bar
- Teplota sušícího plynu: $220 \text{ }^\circ\text{C}$
- Průtok sušícího plynu: $3,0 \text{ L}/\text{min}$
- Napětí na kapiláře: 2800 V.

Podmínky CID experimentu:

- Šířka izolovaného pásu: 5 Da
- Tlak kolizního plynu (N_2): $2,5 \times 10^{-3} \text{ mbar}$
- Rozsah kolizní energie: 10–200 eV

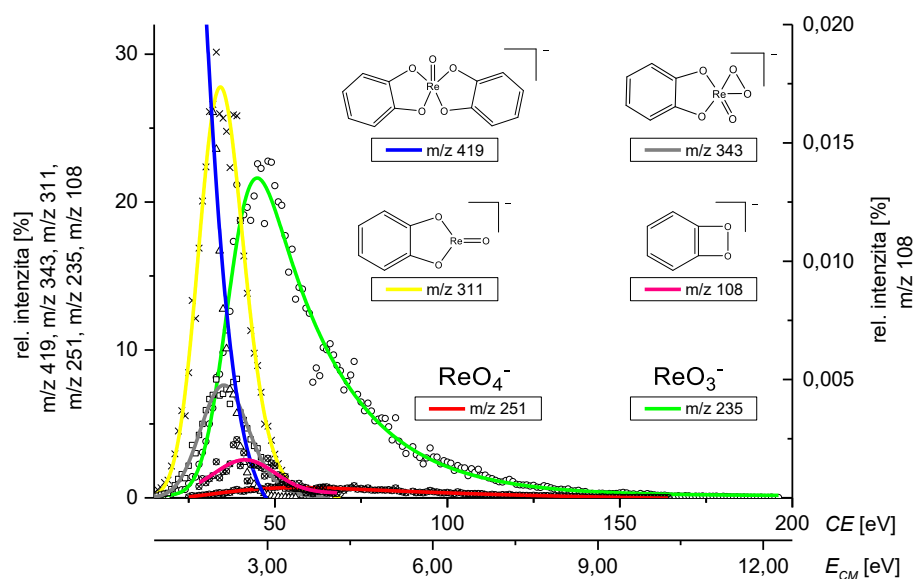
4. Diskuze

Byly připraveny a pomocí hmotnostní spektrometrie s vysokou rozlišovací schopností HRMS charakterizovány mono a dioxo rheniové komplexy s vybranými ligandy. Seznam připravených komplexů s naměřenými daty jsou uvedeny v tabulce 2. Ve všech případech byla konstatována vynikající shoda experimentálně naměřených hodnot m/z s teoretickými hodnotami, přičemž chyba byla při všech měření menší než 1 ppm.

Tabulka 2 – HRMS charakterizace připravených komplexů

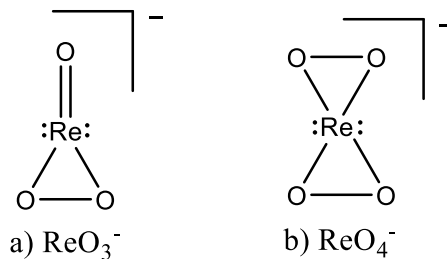
Název	Označení	Sumární vzorec	Měřená m/z	Teoretická m/z	Chyba [ppm]
Rhenistanový anion	$\text{Re}^{\text{VII}}\text{O}_4^-$	ReO_4	250,9359	250,9360	0,4
Bis(1,2-dihydroxybenzen)oxorhenium	$[\text{Re}^{\text{V}}(\text{O})(\text{cat})_2]^-$	$\text{C}_{12}\text{H}_8\text{O}_5\text{Re}$	418,9934	418,9935	0,3
Bis(1,2-dihydroxybenzen)dioxorhenium	$[\text{Re}^{\text{VII}}(\text{O})_2(\text{cat})_2]^-$	$\text{C}_{12}\text{H}_8\text{O}_6\text{Re}$	434,9881	434,9884	0,8
Bis(4-methyl-1,2-dihydroxybenzen)oxorhenium	$[\text{Re}^{\text{V}}(\text{O})(\text{DHT})_2]^-$	$\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_5\text{Re}$	447,0249	447,0248	-0,1
Bis(4-methyl-1,2-dihydroxybenzen)dioxorhenium	$[\text{Re}^{\text{VII}}(\text{O})_2(\text{DHT})_2]^-$	$\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_6\text{Re}$	463,0195	463,0197	0,5
Bis(2,3-dihydroxynaftalen)oxorhenium	$[\text{Re}^{\text{V}}(\text{O})(\text{DHN})_2]^-$	$\text{C}_{20}\text{H}_{12}\text{O}_5\text{Re}$	519,0250	519,0248	-0,4
Bis(2,3-dihydroxynaftalen)dioxorhenium	$[\text{Re}^{\text{VII}}(\text{O})_2(\text{DHN})_2]^-$	$\text{C}_{20}\text{H}_{12}\text{O}_6\text{Re}$	535,0198	535,0197	-0,2

Kolizní experimenty, při kterých byla postupně po 1 eV zvyšována laboratorní kolizní energie CE v intervalu 10–200 eV byly provedeny se všemi připravenými komplexy. U všech iontů obsahujících rhenium byl registrován charakteristický izotopový profil odpovídající přirozenému zastoupení izotopů rhenia $^{185}\text{Re}/^{187}\text{Re}$ v poměru 37 %/63 %. Tento charakteristický profil izotopů byl využit i pro identifikaci fragmentových iontů, a proto byly prekurzní ionty izolovány v intervalu širokém 5 Da.



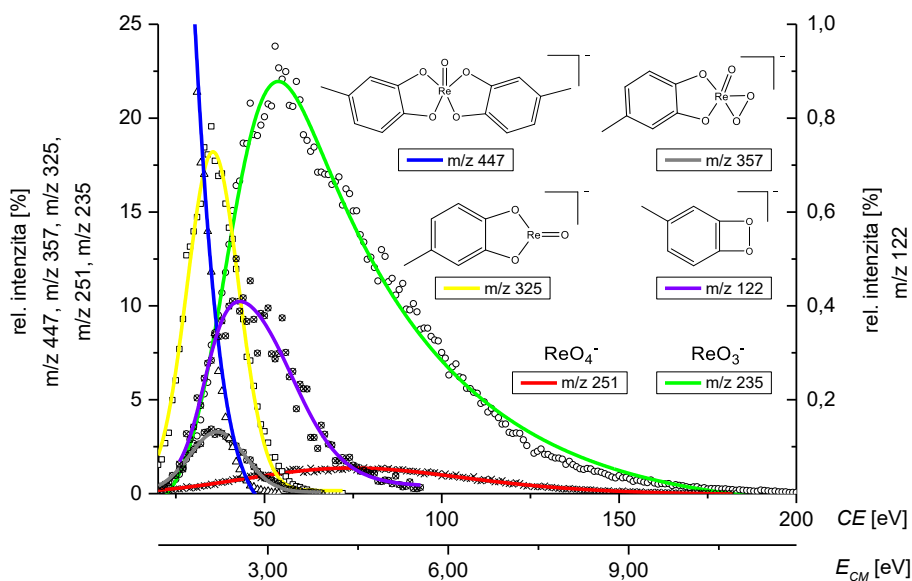
Obrázek 5 – Graf závislosti relativní intenzity iontů vzniklých fragmentací $[\text{Re}^V(\text{O})(\text{cat})_2]^-$ na CE resp. E_{CM}

Jak je patrné z diagramu CID experimentu na obrázku 5 při fragmentaci komplexu $[\text{Re}^V(\text{O})(\text{cat})_2]^-$, kde byl jako prekurzní iont vybrán m/z 419 pozorujeme současnou tvorbu iontů m/z 343 a m/z 311, přičemž se zdá, že zatímco v iontu m/z 343 vystupuje rhenium v oxidačním stupni Re^{5+} , v případě iontu m/z 311 došlo již k redukci na Re^{3+} . Rovněž bylo pozorováno, že další dva ionty m/z 251 a m/z 235 vznikají opět současně a to tak, že pro ion $[\text{ReO}_4]^-$ je prekurzorem iont m/z 343 a rhenium se v tomto případě dostává do oxidačního stavu Re^{3+} , naopak prekurzorem pro ion $[\text{ReO}_3]^-$ musí být ion m/z 311. Předpokládané struktury těchto dvou iontů jsou na obrázku 6.

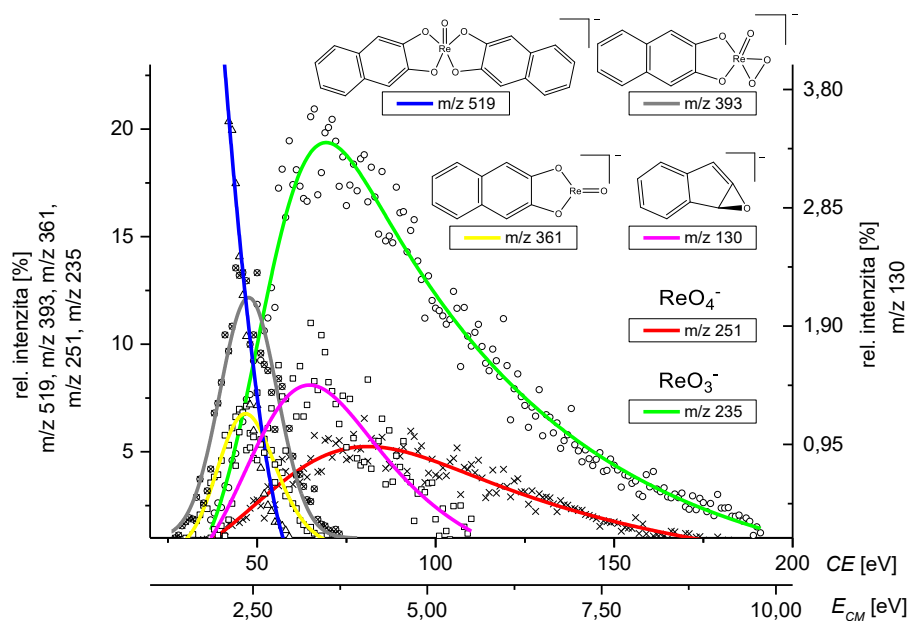


Obrázek 6 – Předpokládané struktury iontů $\text{Re}^{III}\text{O}_3^-$ a $\text{Re}^{III}\text{O}_4^-$

Dokonalá analogie s tímto chováním byla pozorována i u ostatních studovaných monooxo komplexů, jak je patrné z obrázků 7 a 8. V malé míře s intenzitou do 2 % byly ve spektrech monooxo komplexů nalezeny také ionty, které nevykazovaly zastoupení izotopů charakteristické pro přítomnost rhenia. Ve fragmentačních spektrech dioxokomplexů tyto ionty s výjimkou komplexu s 2,3-dihydroxynaftalenem $[\text{Re}^{\text{VII}}(\text{O})_2(\text{DHN})_2]^-$ chyběly.

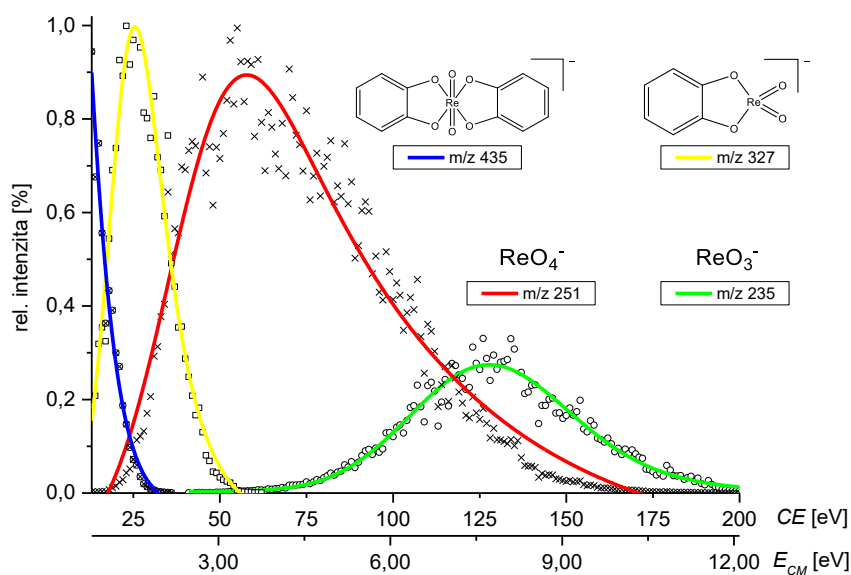


Obrázek 7 – Graf závislosti relativní intenzity iontů vzniklých fragmentací $[\text{Re}^{\text{V}}(\text{O})(\text{DHT})_2]^-$ na CE resp. E_{CM}

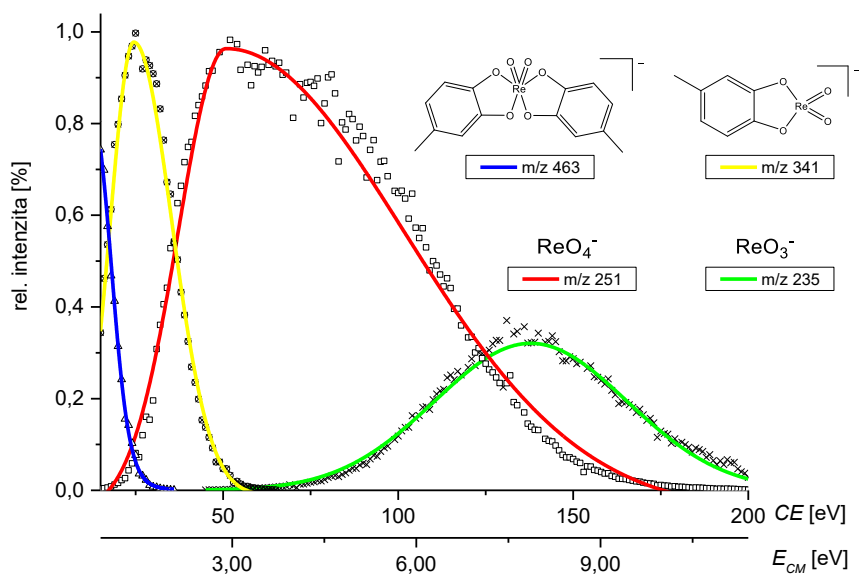


Obrázek 8 – Graf závislosti relativní intenzity iontů vzniklých fragmentací vzorku $[\text{Re}^{\text{V}}(\text{O})(\text{DHN})_2]^-$ na CE resp. E_{CM}

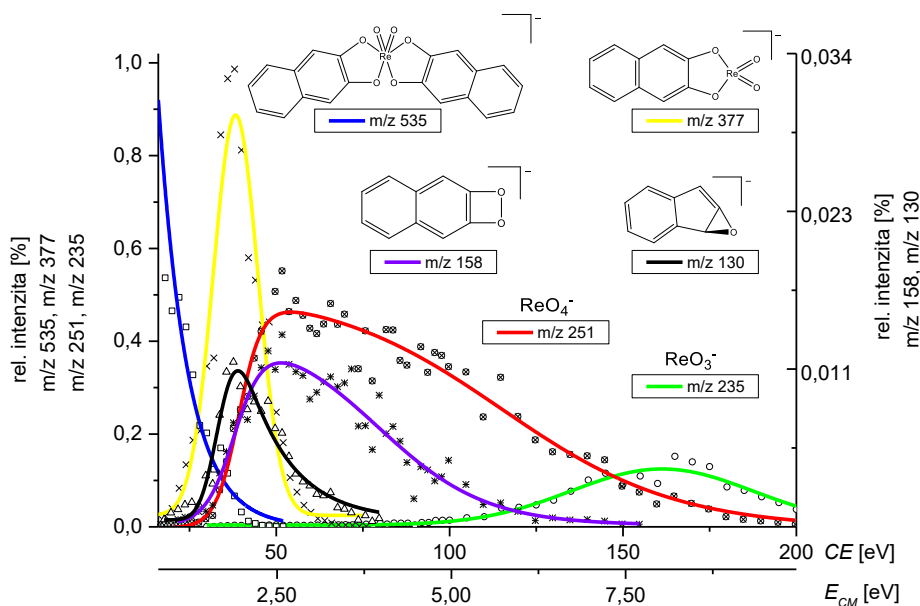
U dioxo komplexů, kde se fragmentují anionty s rheniovým atomem v oxidačním stupni Re^{7+} , bylo zaznamenáno odlišné chování. Při postupném zvyšování kolizní energie, jak je zjevné z obrázků 9 až 11, nejprve dochází ke ztrátě jednoho ligandu, což je spojeno se snížením oxidačního stavu rhenia. Rozpadem tohoto iontu při dalším zvyšování kolizní energie přechází rhenium na Re^{3+} a vzniká ion $[\text{ReO}_4]^-$. Při dalším zvyšování energie se postupně z tohoto iontu uvolňuje atom kyslíku, což nakonec poskytuje ion $[\text{ReO}_3]^-$ s rheniem v oxidačním stavu Re^{1+} . Stejně jako v předešlém případě lze konstatovat, že ostatní dioxo komplexy se fragmentují analogicky. Malá odlišnost byla pozorována u fragmentace dioxo komplexu s 2,3-dihydroxynaftalenem $[\text{Re}^{\text{VII}}(\text{O})_2(\text{DHN})_2]^-$, kde byly pravděpodobně díky lepší stabilizaci náboje pozorovány i dva fragmenty m/z 158 a m/z 130 neobsahující rheniový atom (viz obrázek 11). Vznik těchto iontů je pravděpodobně také příčinou mírné deformace křivky vyjadřující odezvu iontu m/z 251 v závislosti na vzrůstající CE.



Obrázek 9 – Graf závislosti relativní intenzity iontů vzniklých fragmentací $[Re^{VII}(O)_2(cat)_2]^-$ na CE resp. E_{CM}



Obrázek 10 – Graf závislosti relativní intenzity iontů vzniklých fragmentací $[Re^{VII}(O)_2(DHT)_2]^-$ na CE resp. E_{CM}



Obrázek 11 – Graf závislosti relativní intenzity iontů vzniklých fragmentací vzorku $[\text{Re}^{\text{VII}}(\text{O})_2(\text{DHN})_2]^-$ na CE. resp. E_{CM}

V tabulce 3 jsou shromážděny těžišťové kolizní energie E_{CM} odpovídající maximálním odezvám iontů $[\text{ReO}_4]^-$ a $[\text{ReO}_3]^-$ pro jednotlivé připravené komplexy a samotný rhenistan amonný. Z tabulky maxim iontů m/z 235 a m/z 251 při CID experimentu vyplývá, že jak iont $[\text{ReO}_4]^-$ tak také iont $[\text{ReO}_3]^-$ mají různé formy lišící se vazebnou energií a také oxidačním stavem rhenia. Z grafů závislosti intenzity iontů vzniklých MS/MS fragmentací na kolizní energii dále plyne, že iont $[\text{ReO}_3]^-$ vzniká rozpadem iontu $[\text{ReO}_4]^-$ pouze u dioxo komplexů a rhenistanu, zatímco u monooxo komplexů vznikají oba ionty současně ale každý z jiného prekurzoru.

Tabulka 3 – Hodnoty E_{CM} , při které nabývají maxima relativní intenzity iontů m/z 251 a m/z 235.

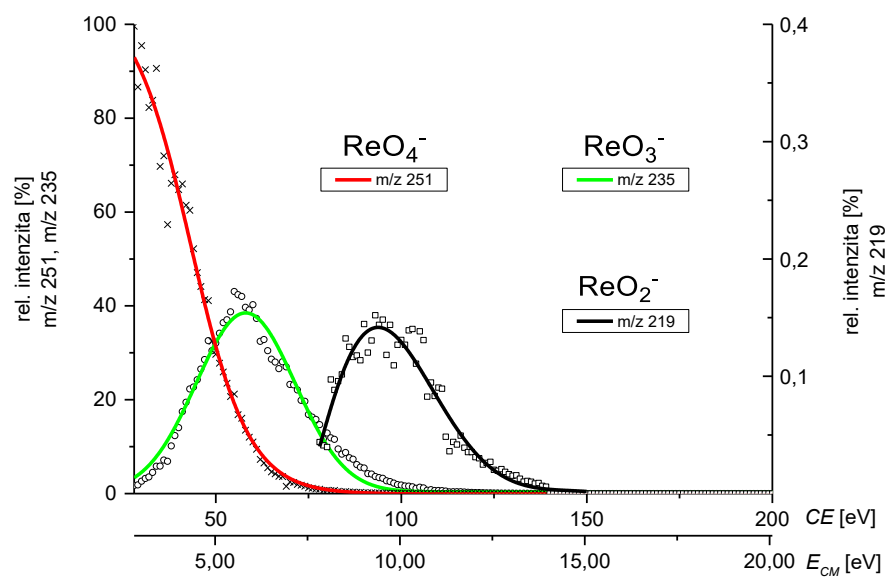
m/z	Těžišťová kolizní energie – E_{CM} [eV]						
	NH_4ReO_4	$[\text{Re}(\text{O})(\text{cat})_2]^-$	$[\text{Re}(\text{O})(\text{DHT})_2]^-$	$[\text{Re}(\text{O})(\text{DHN})_2]^-$	$[\text{Re}(\text{O})_2(\text{cat})_2]^-$	$[\text{Re}(\text{O})_2(\text{DHT})_2]^-$	$[\text{Re}(\text{O})_2(\text{DHN})_2]^-$
251	2,8	3,4	4,4	4,0	3,5	3,1	2,7
235	5,8	2,8	3,1	3,6	7,7	7,9	8,0

Hodnoty kolizních energií iontu m/z 251, které se pohybují v rozmezí 3,4–4,4 eV naznačují, že by tento iont mohl být společný pro všechny komplexy. Jednoznačně

odlišnou strukturu má tento ion v případě rhenistanu, čemuž odpovídá i daleko nižší hodnota E_{CM} , která v tomto případě činila 2,8 eV. Odchytku u komplexu $[\text{Re}^{\text{VII}}(\text{O})_2(\text{DHN})_2]^-$, kde byla odečtena hodnota pouze 2,7 eV lze přičíst deformaci závislosti způsobené přítomností iontů bez rhenia. Naproti tomu u iontu m/z 235 pozorujeme na základě odečtených E_{CM} výrazné rozdělení do dvou odlišných skupin. V první z nich tvořené monooxo komplexy se energie pohybuje v rozmezí 2,8–3,6 eV, zatímco v druhé příslušící dioxo komplexům byly naměřeny energie výrazně vyšší a to mezi 7,7–8,0 eV. Zároveň byl pozorován mírný nárůst energií v souvislosti se zvyšující se hmotností ligandu. Tato výrazná odlišnost v kolizních energiích koresponduje s předpokladem, že iont $[\text{ReO}_3]^-$ není u obou skupin komplexů totožný.

Velmi pravděpodobně pouze v případě rhenistanového aniontu jsou přítomné čtyři rovnocenné vazby $\text{Re}=\text{O}$ tvořící deformovaný tetraedr, jak je naznačeno na obrázku 2b. Ztrátou jednoho atomu kyslíku vzniká planární $[\text{ReO}_3]^-$ se třemi $\text{Re}=\text{O}$ vazbami a dvojicí volných elektronů, kde rhenium vystupuje v oxidačním stavu Re^{5+} , což ukazuje obrázek 2a. Odštěpením dalšího atomu kyslíku dostáváme iont $[\text{ReO}_2]^-$ pozorovatelný pouze při fragmentaci rhenistanu amonného. U této formy lze předpokládat přítomnost dvou kyslíků na dvojných vazbách a dvě dvojice volných elektronů, což by odpovídalo oxidačnímu stupni rhenia Re^{3+} . Průběh kolizní disociace u rhenistanu amonného je zobrazena na obrázku 12.

MS/MS spektra všech komplexů zaznamenaná při hodnotě CE 50 eV jsou součástí přílohy A.



Obrázek 12 – Graf závislosti relativní intenzity iontů vzniklých fragmentací NH_4ReO_4 na CE resp. E_{CM}

5. Závěr

Bylo připraveno a pomocí HRMS charakterizováno šest rheniových komplexů se třemi různými fenolickými ligandy 1,2,-dihydroxybenzenem; 4-methyl-1,2-dihydroxybenzenem a 2,3-dihydroxynaftalenem. Ve všech případech byla chyba experimentálně naměřených hodnot m/z menší než 1 ppm a rovněž byla prokázána vysoká shoda izotopových profilů.

Vůbec poprvé byl pomocí hmotnostní spektrometrie studován vliv ligandu na tvorbu $[\text{ReO}_4]^-$ resp. $[\text{ReO}_3]^-$ iontů. S připravenými komplexy byly provedeny CID experimenty a interpretovány fragmentační mechanismy. Z měření vyplynulo, že struktury mono-rhenium oxidových klastrů ReO_n vznikajících fragmentací komplexů jsou závislé na typu výchozího iontu.

6. Použitá literatura

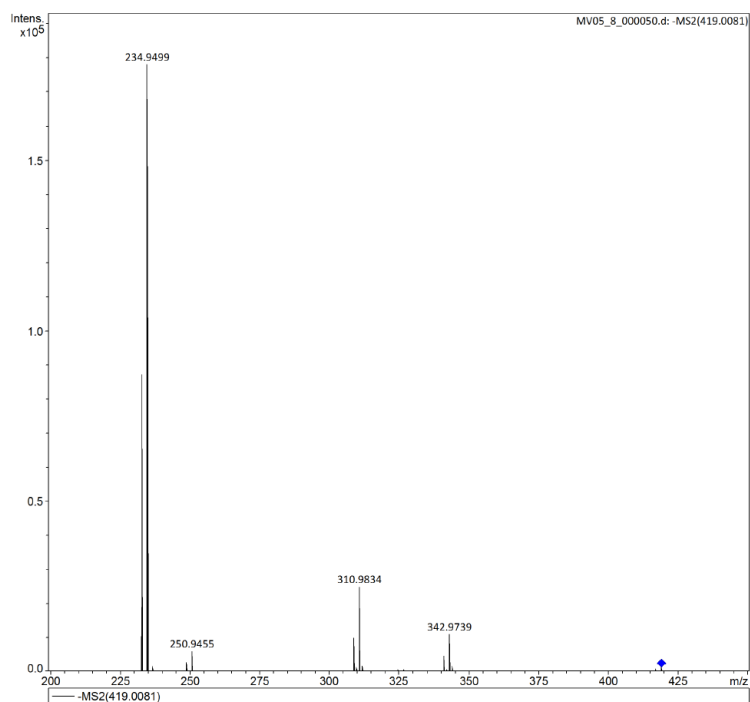
- [1] Jonathan R. Dilworth, S. J. P.: The biomedical chemistry of technetium and rhenium. *Chemical Society Reviews*, 27, 43–55. (1998)
- [2] Pombeiro, A. J. L., Guedes da Silva, M. F. C., & Crabtree, R. H.: Technetium & Rhenium: Inorganic & Coordination Chemistry. *Encyclopedia of Inorganic Chemistry*, 1–17. (2006)
- [3] Colton, R.: *The chemistry of rhenium and technetium*. Interscience Publishers. (1965)
- [4] Abrams, M. J., Murrer, B. A., & Johnson, M.: *Advances in Metals in Medicine*. JAI Press. (1993)
- [5] Štícha, M., Jelínek, I., Poláková, J., & Kaliba, D.: Characterization of Rhenium(V) Complexes with Phenols Using Mass Spectrometry with Selected Soft Ionization Techniques. *Analytical Letters*. (2015)
- [6] Rouschias, G.: Recent advances in the chemistry of rhenium. *Chemical Reviews*, 74(5), 531–566. (1974)
- [7] Štícha, M., Kaliba, D., Jelínek, I., & Poláková, J.: Analytical study of rhenium complexes with pyrogallol and catechol. *Chemical Papers*, 71(4), 819–830. (2017)
- [8] Konířová, R., Ernestová, M., Jedináková-Křížová, V., & Král, V.: Radioactively labelled porphyrin derivatives. *Czechoslovak Journal of Physics*, 53(S1), A755–A761. (2003)
- [9] Kohlíčková, M., Křížková-Jedináková, V., & Melichar, F.: Komplexní sloučeniny rhenia v nukleární medicíně. *Chem. Listy*, 94, 151–158. (2000)
- [10] Tisato, F., Bolzati, C., Porchia, M., & Refosco, F.: Contribution of electrospray mass spectrometry for the characterization, design, and development of nitrido technetium and rhenium heterocomplexes as potential radiopharmaceuticals. *Mass Spectrometry Reviews*, 23(5), 309–332. (2004)
- [11] Truebenbach, C. S., Hercules, D. M., & Houalla, M.: Characterization of isopoly metal oxyanions using electrospray time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, 35(9), 1121–1127. (2000)
- [12] Hand, O. W., Scheifers, S. M., & Cooks, G. R.: Interfacial reactions and counterion effects in the secondary ion mass spectra of perrhenate salts.

- International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*, 78, 131–146. (1987)
- [13] Sahureka, F., Burns, R. C., & Von Nagy-Felsobuki, E. I.: Electrospray characterization of perrhenate systems. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*. (2001)
- [14] Chen, W.-J., Zhai, H.-J., Huang, X., & Wang, L.-S. cs.: On the electronic structure of mono-rhenium oxide clusters: and ReO_n ($n = 3, 4$). *Chemical Physics Letters*. (2011)
- [15] Beyer, M., Berg, C., Joos, S., Achatz, U., Hieringer, W., Niedner-Schatteburg, G., & Bondybey, V. E.: The $[\text{Re}, \text{O}_8]^+$ potential energy surface: Fourier transform ion cyclotron resonance collision induced dissociation studies and density functional calculations. *International Journal of Mass Spectrometry*, 185, 625–638. (1999)
- [16] Beyer, M. K., Berg, C. B., & Bondybey, V. E.: Gas-phase reactions of rhenium-oxo species ReO_n^+ , $n = 0, 2-6, 8$, with O_2 , N_2O , CO , H_2O , H_2 , CH_4 and C_2H_4 . *Physical Chemistry Chemical Physics*. (2001)
- [17] Beyer, M., Berg, C., Albert, G., Achatz, U., Joos, S., Niedner-Schatteburg, G., & Bondybey, V. E.: Dinitrogen and carbon dioxide fixation by transition metal oxo complexes. *Journal of the American Chemical Society*. (1997)
- [18] Yamashita, M., & Fenn, J. B.: Electrospray ion source. Another variation on the free-jet theme. *The Journal of Physical Chemistry*, 88(20), 4451–4459. (1984)
- [19] Henderson, W., & McIndoe, J. S.: *Mass Spectrometry of Inorganic and Organometallic Compounds*. Wiley. (2005)
- [20] Gross, J. H. .: *Mass Spectrometry. Handbook of Spectroscopy* (3rd ed.). Springer International Publishing. (2017)
- [21] Hoffmann, E. De, & Stroobant, V.: *Mass Spectrometry - Principles and Applications. Mass spectrometry reviews* (3rd ed.). Wiley. (2007)
- [22] Kebarle, P., & Tang, L.: From Ions in Solution to Ions in the Gas Phase: The Mechanism of Electrospray Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*. (1993)
- [23] Rayleigh, Lord: XX. On the equilibrium of liquid conducting masses charged with electricity. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, 14(87), 184–186. (1882)

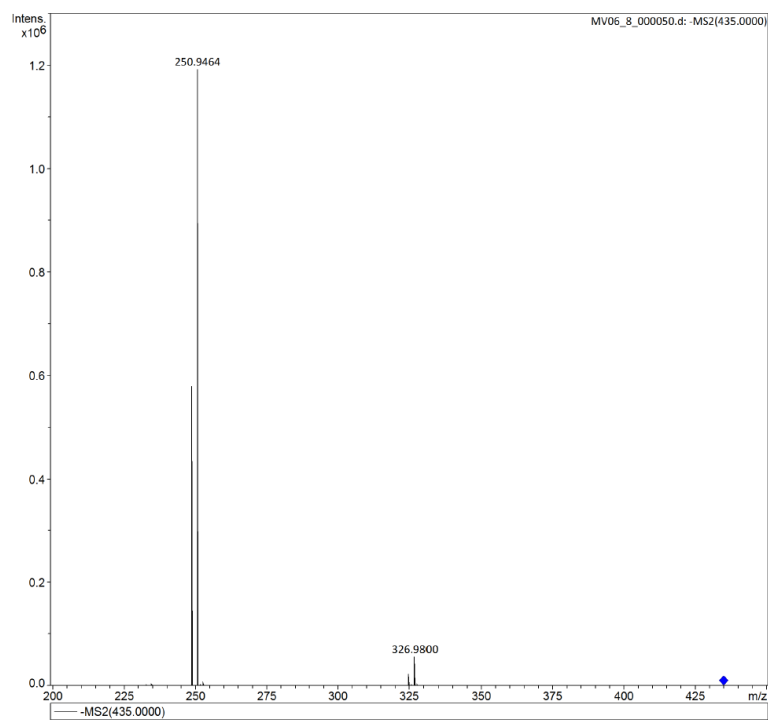
- [24] Schalley, A. C. (Ed.): *Modern Mass Spectrometry* (Vol. 225). Springer-Verlag Berlin Heidelberg. (2003)
- [25] Dole, M., Mack, L. L., Hines, R. L., Chemistry, D. O., Mobley, R. C., Ferguson, L. D., & Alice, M. B.: Molecular beams of macroions. *The Journal of Chemical Physics*, 49, 2240–2249. (1968)
- [26] Iribarne, J. V., & Thomsom, B. A.: On the evaporation of small ions from charged droplets. *The Journal of Chemical Physics*, 64, 2287. (1976)
- [27] Henderson, W., Nicholson, B. K., & McCaffrey, L. J.: Applications of electrospray mass spectrometry in organometallic chemistry. *Polyhedron*, 17, 4291–4313. (1998)
- [28] Traeger, J. C.: Electrospray mass spectrometry of organometallic compounds. *International Journal of Mass Spectrometry*, 200(June), 387–401. (2000)
- [29] Makowiecki, J., Tolonen, A., Uusitalo, J., & Jalonen, J.: Cone voltage and collision cell collision-induced dissociation study of triphenylethylenes of pharmaceutical interest. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 15(17), 1506–1513. (2001)
- [30] Harrison, A. G.: Energy-resolved mass spectrometry: A comparison of quadrupole cell and cone-voltage collision-induced dissociation. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 13(16), 1663–1670. (1999)
- [31] Douglas, D. J.: Applications of collision dynamics in quadrupole mass spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, (9), 101–113. (1998)

7. Přílohy

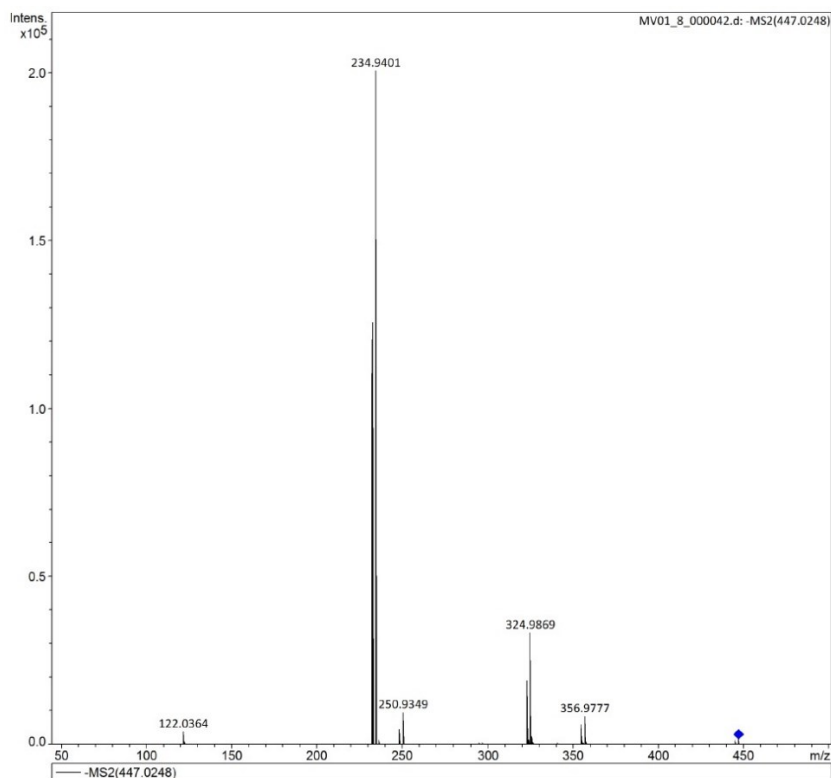
7.1. Příloha A – MS/MS spektra studovaných komplexů



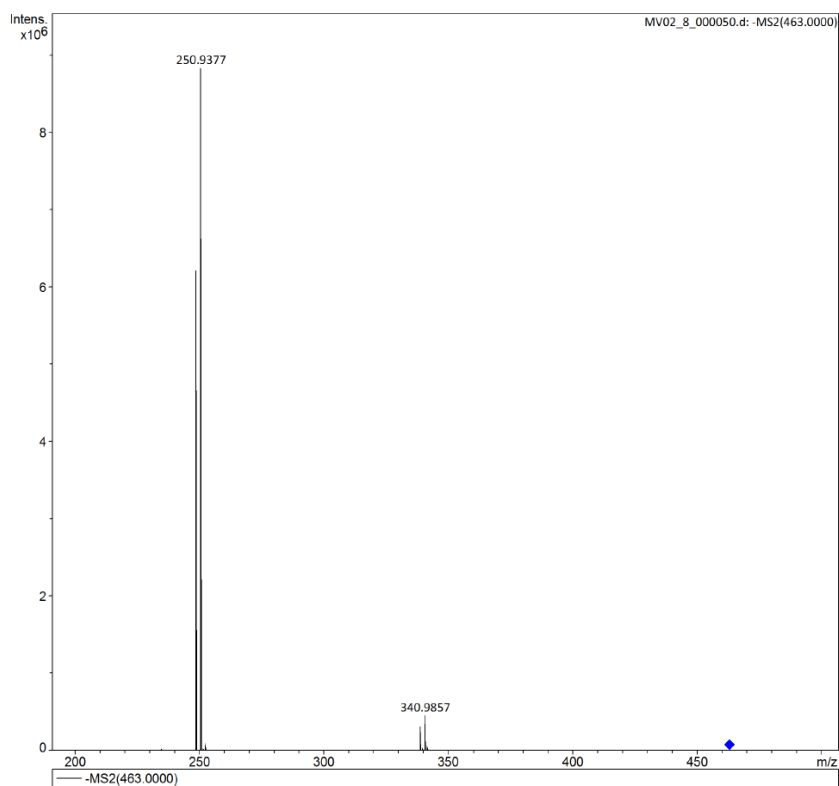
Obrázek 13 – MS/MS spektrum komplexu $[Re(O)(cat)_2]^-$ při CE 50 eV.



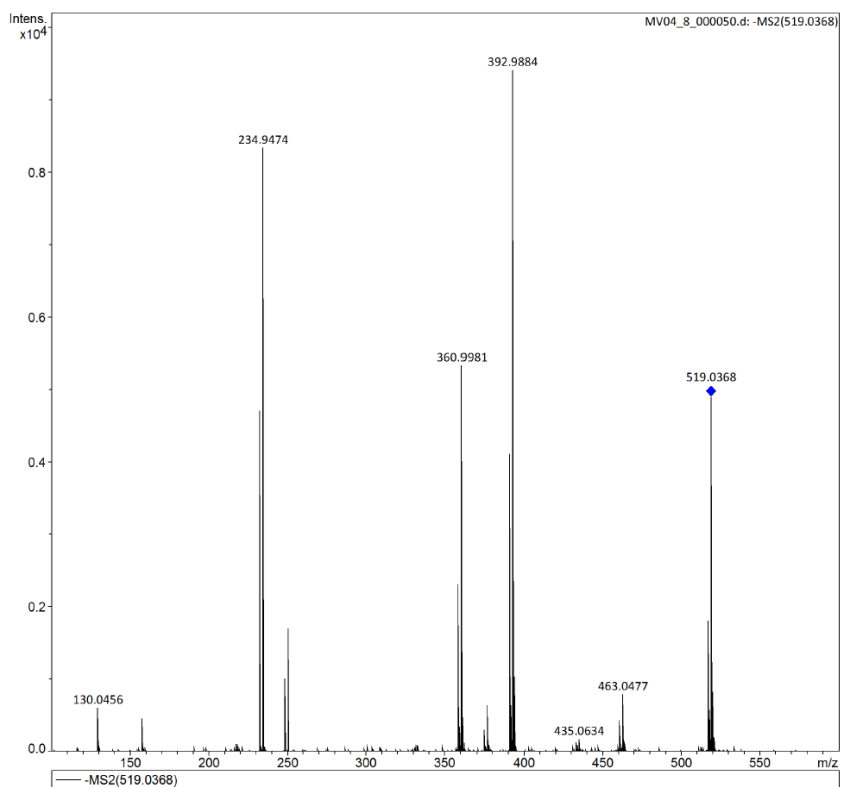
Obrázek 14 – MS/MS spektrum komplexu $[Re(O)_2(cat)_2]^-$ při CE 50 eV



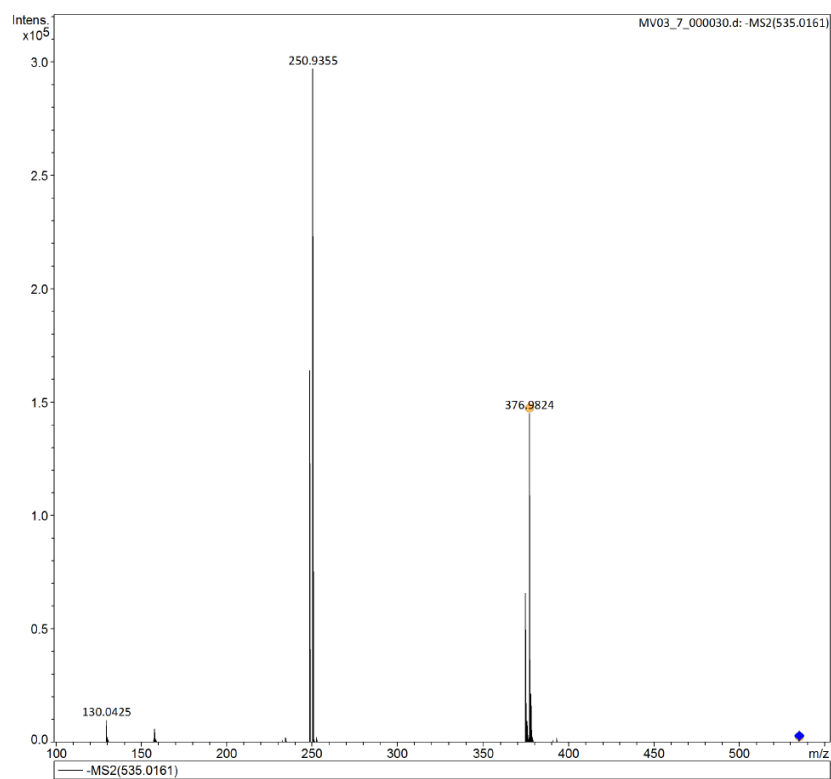
Obrázek 15 – MS/MS spektrum komplexu $[Re(O)(DHT)_2]^-$ při CE 50 eV



Obrázek 16 – MS/MS spektrum komplexu $[Re(O)_2(DHT)_2]^-$ při CE 50 eV



Obrázek 17 – MS/MS spektrum komplexu $[Re(O)(DHN)_2]^-$ při CE 50 eV



Obrázek 18 – MS/MS spektrum komplexu $[Re(O)_2(DHN)_2]^-$ při CE 50 eV