

# INTERPRETACE HMOTNOSTNÍCH SPEKTER

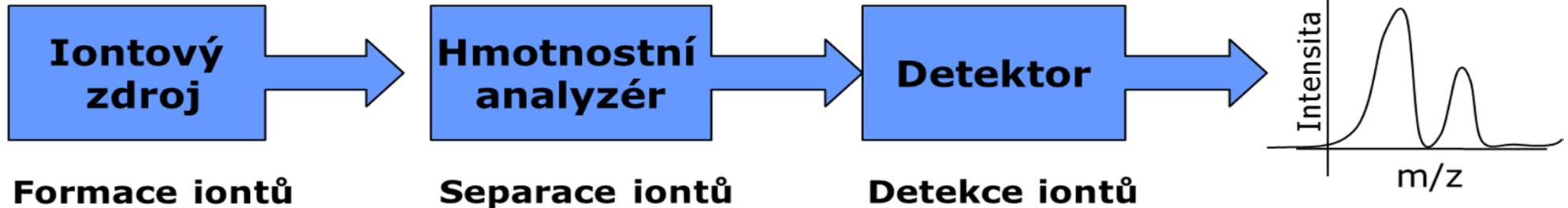


Lubomír Prokeš

## Historický vývoj hmotnostní spektrometrie

- 1898 (Wien) - objev zakřivení dráhy letu urychlených iontů v elektrickém a magnetickém poli
- 1913 (Thomson) - rozdělení izotopů neonu  $^{20}\text{Ne}$  a  $^{22}\text{Ne}$  pomocí tzv. parabolového spektrografu, považován za zakladatele MS
- 1924 (Thomson, Aston) - charakterizováno izotopické zastoupení 50ti prvků
40. léta 20. stol. - rozšíření MS v oblasti petrolejářského průmyslu, analýza způsobem "otisku palce" bez interpretace spekter
- 1957 (Holmes, Morrell) - první pokus o spojení GC/MS
- 1973 (Baldwin, McLafferty) - první pokus o spojení HPLC/MS
- 1976 (McFadden & kol.) - Moving Belt převodník pro spojení HPLC/MS
- 1966 (Munson, Field) – popis chemické ionizace (1. měkká ionizační technika)
- 1982 (Barber) - vynález ionizace urychlenými atomy (FAB)
- 1984 (Willoughby, Browner) - Particle Beam HPLC/MS spojení
- 1984 (Fenn) – vynález ionizace elektrosprejem (ESI)
- 1989 (Hillenkamp, Karas) - vynález MALDI
- 2002 (Fenn, Tanaka) – Nobelova cena za chemii – vynález měkkých ionizačních technik (elektrosprej a MALDI) pro analýzu biomakromolekul

# Hmotnostní spektrometrie



## Formace iontů

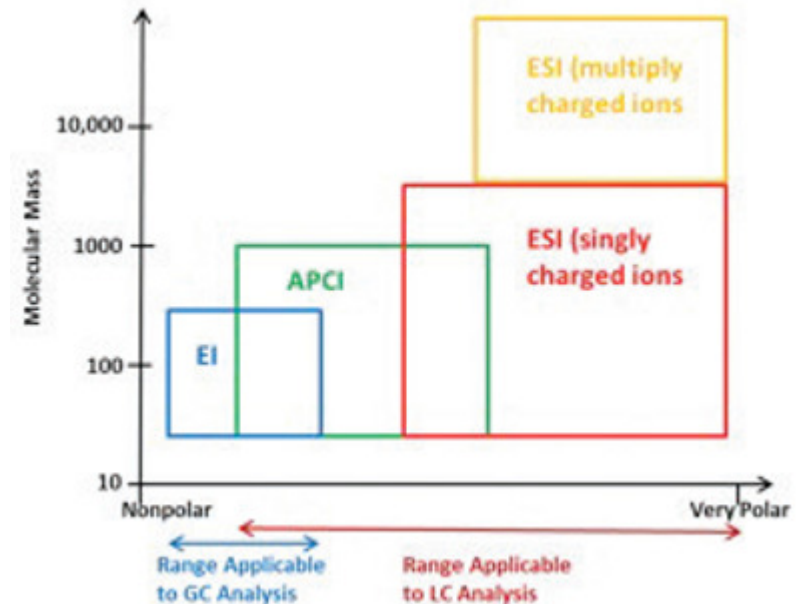
MALDI  
 SELDI  
 Electron impact  
 Spark source  
 Termická ionizace  
 Fotoionizace  
 Chemická ionizace  
 Field ionizace  
 Field desorpce  
 Multifotónová ionizace  
 Rychlé atomové bombardování  
 Plazmická desorpce  
 Infračervená laserová desorpce  
 Nanosprej  
 Elektrosprejová ionizace

## Separace iontů

Time-of-flight (TOF)  
 Magnetický  
 Double-focusing  
 Reverzní geometrie  
 Quadrupólová  
 Quadrupólová iontová past  
 Triple quadrupole  
 Čtyřsektorový  
 Hybridní  
 Radiofrekvenční  
 Fourierova transformace  
 Magnetický sektor  
 Elektrický sektor  
 Lineární iontová past  
 Iontová cyklotronová resonance

## Detekce iontů

Faraday cup  
 Sekundární elektronový multiplikátor  
 Scintilátor  
 Mikrokanálová platnička

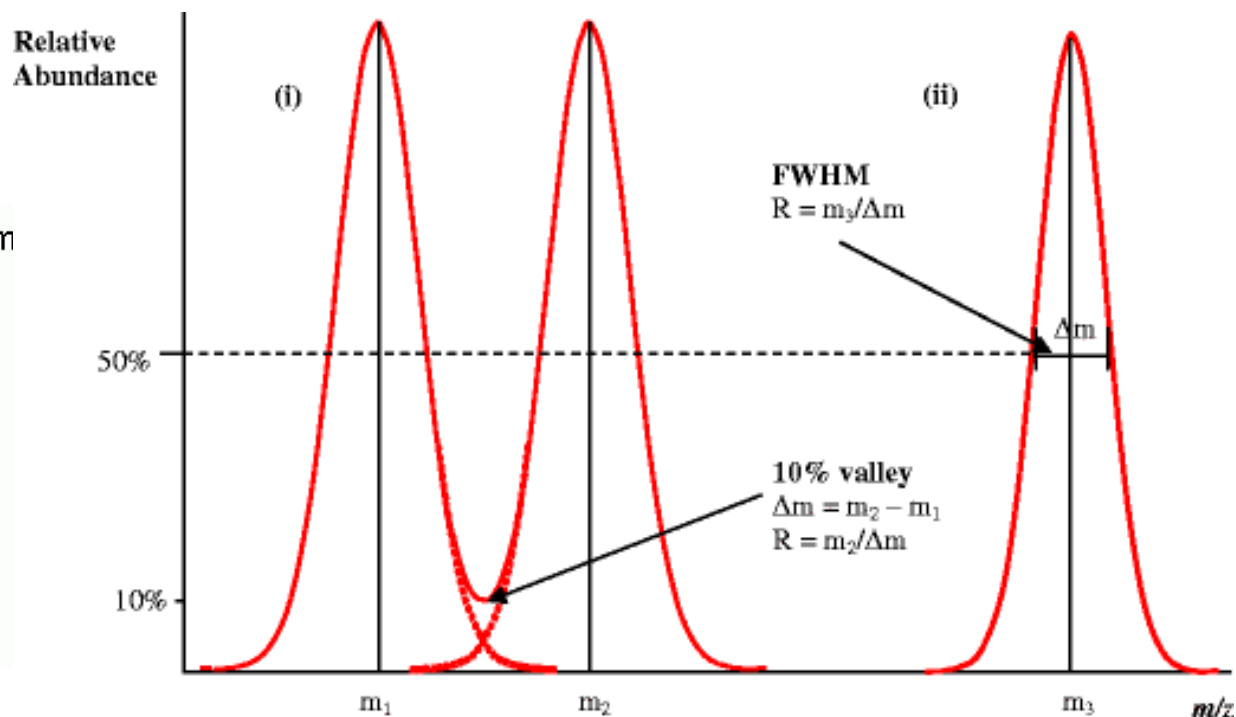
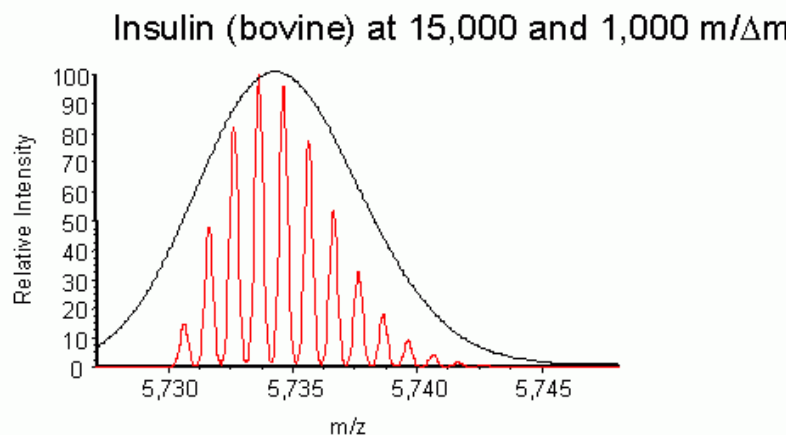


# Rozlišovací schopnost (rozlišení, R)

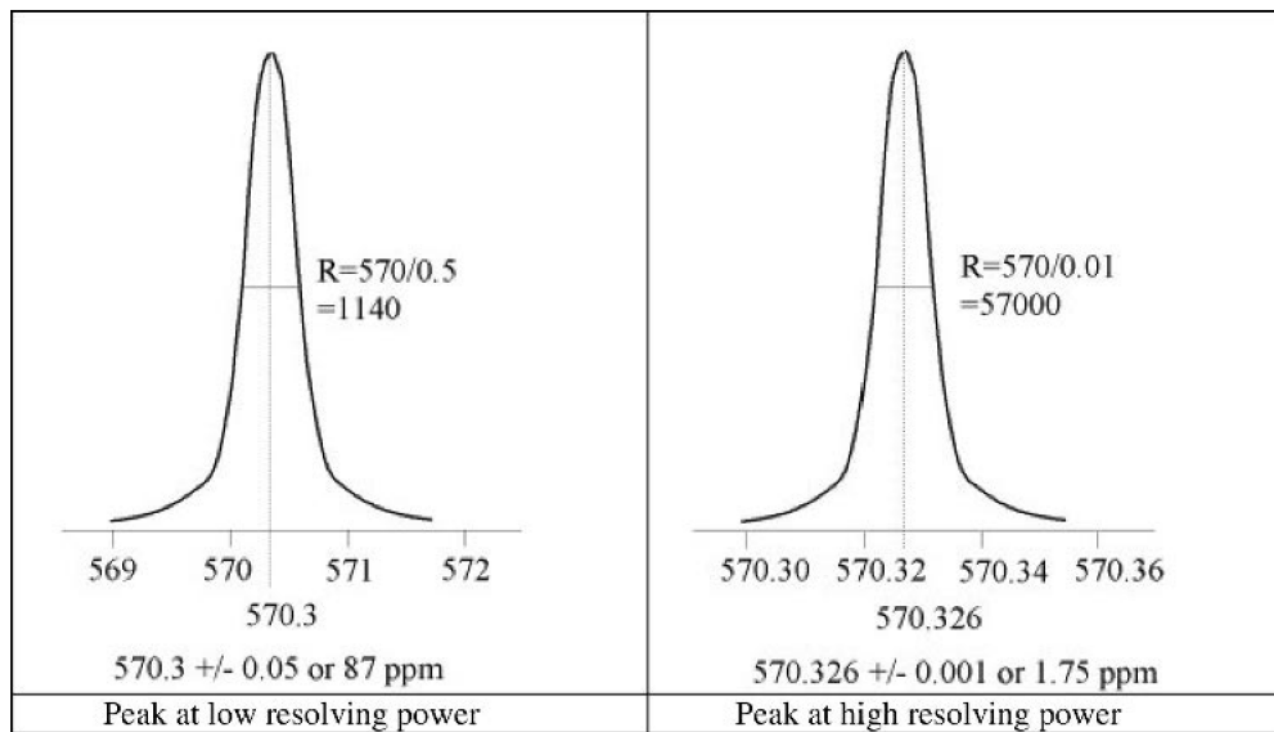
= schopnost rozlišit hmotnostním spektru dva píky s velmi blízkými ( $\Delta M$ ) hodnotami  $m/z$ .

**A/ definice založená na šířce jednoho píku** (univerzální) - poměr hmotnosti iontu  $m$  a šířky tohoto iontu  $\Delta m$  v polovině jeho výšky (Full Width at Half Maximum, FWHM).

**B/ definice založená na překryvu dvou píků** - poměr hmotnosti iontu  $m_1$  a rozdílu iontů  $m_1$  a  $m_2$  s jednotkovým nábojem, přičemž oba píky musí být stejně vysoké, údolí mezi píky je 10% (tj. překrývají se z 10%) a mají jednotkový náboj. Používané zejm. u magnetických analyzátorů.



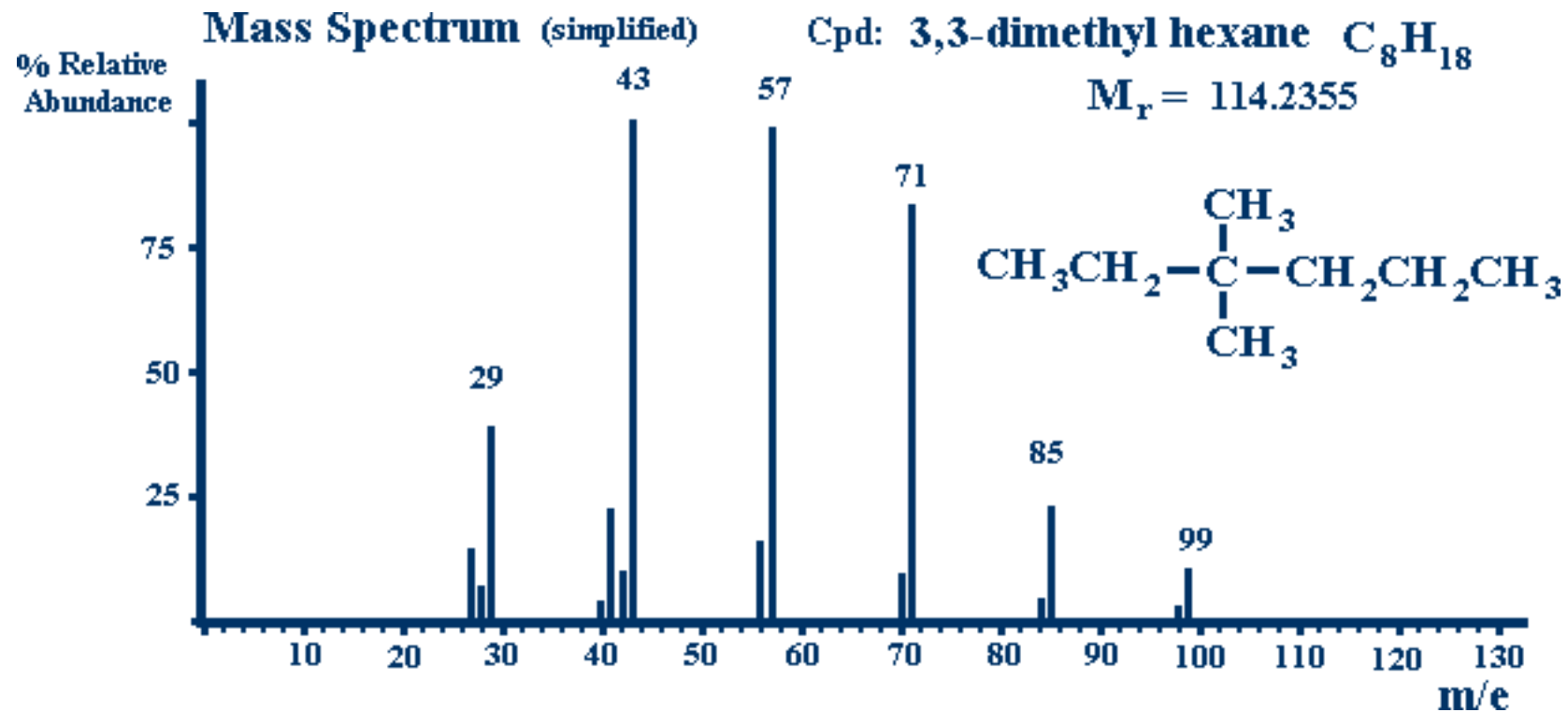




Mass Analyser	Typical mass accuracy (ppm)	Typical mass resolution (FWHM) at $m/z$ 1000
Fourier Transform ion cyclotron resonance (FT-ICR)	1–2 <sup>a</sup>	$10^5$ <sup>a</sup>
Magnetic sector	1–2	$10^5$
Time-of-flight (ToF)	~1–5 <sup>b</sup>	$10^3$ – $5 \times 10^4$
Orbitrap	1–2 <sup>c</sup>	$10^5$
Ion trap	~100	$10^3$
Quadrupole	~100	$10^3$

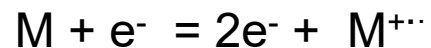
# Hmotnostní spektrum (nízké rozlišení)

= sloupcový diagram intenzita vs. m/z, normalizovaný na maximální intenzitu (100 %)



**Pro jednotlivé analyty jsou definovány:**

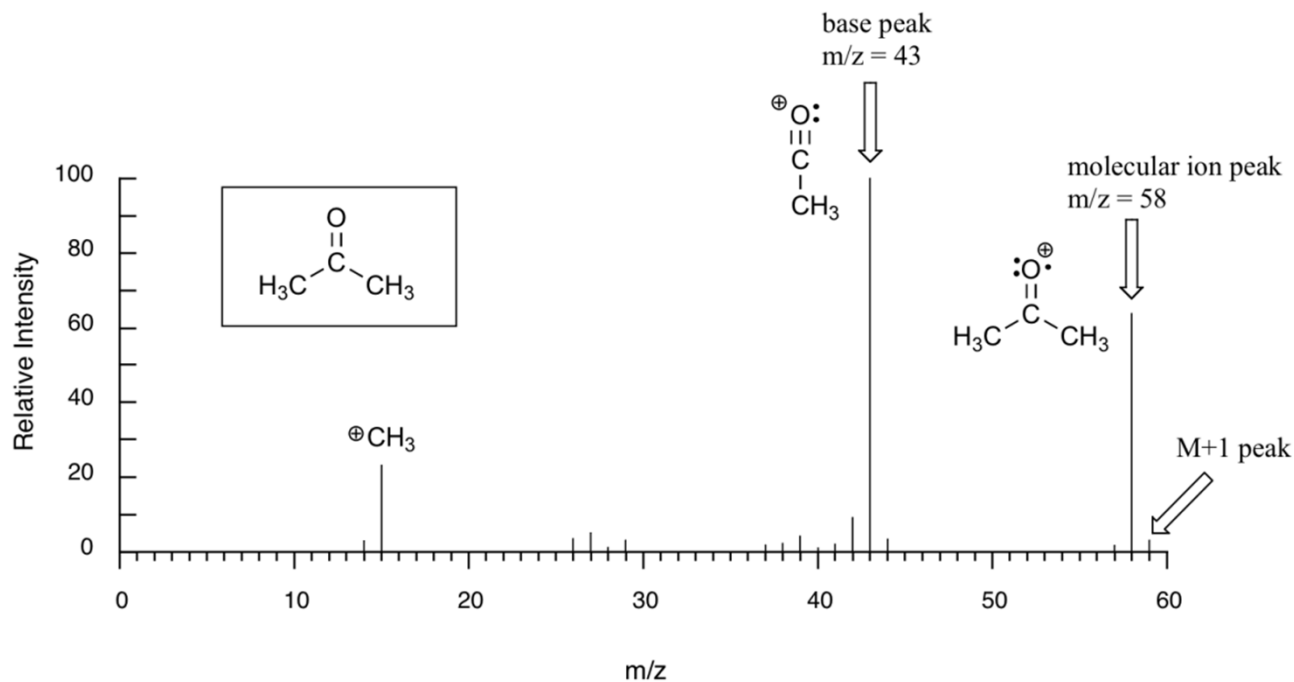
**Molekulový pík:** reprezentuje molekulový ion-radikál  $M^{+\cdot}$



**Fragmentové píky:** reprezentují ionty vznikající fragmentací molekulového ion-radikálu  $(M - X)^+$

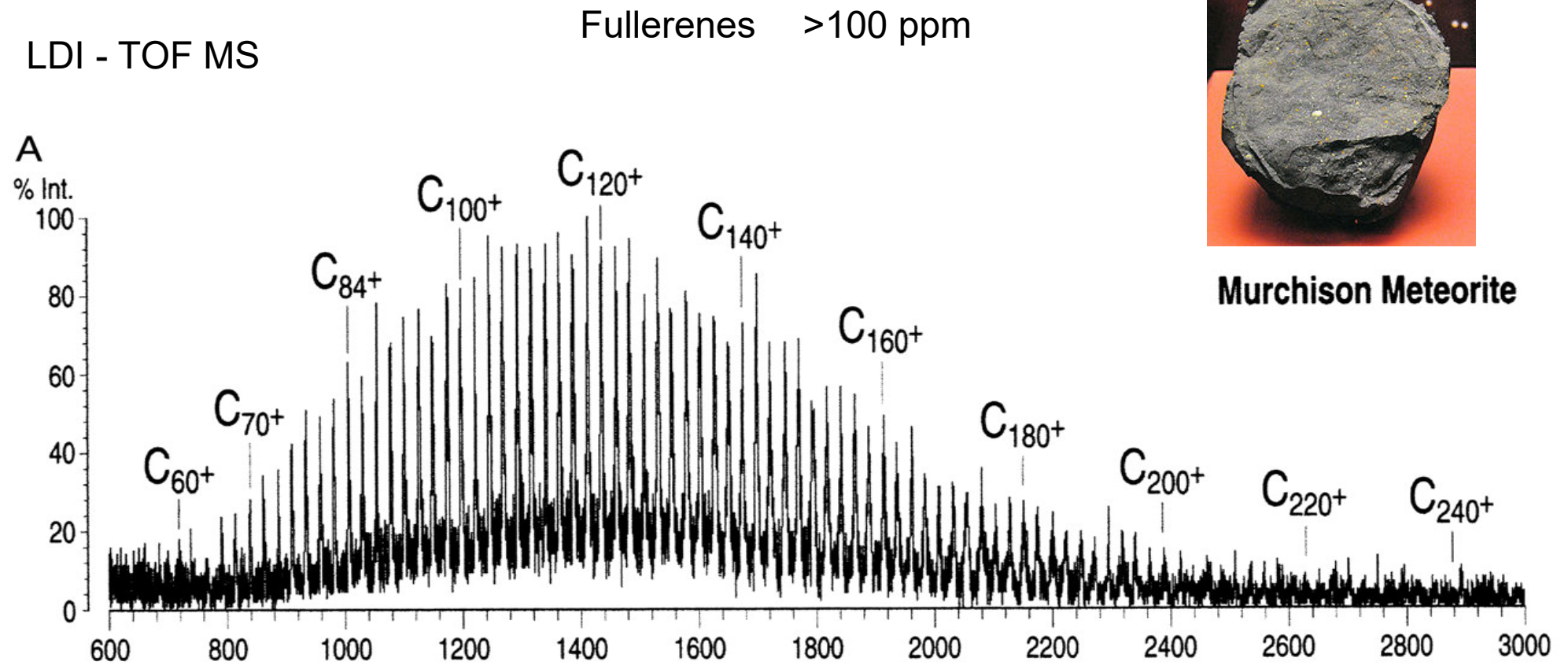
**Základní (base) pík:** nejintenzivnější pík ve spektru (100 %)

**Izotopové píky:** důsledek přítomnosti stabilních izotopů přírodě, zejm.  $(M+1)^{+\cdot}$  a/nebo  $(M+2)^{+\cdot}$



# Hmotnostní spektrum (metody s vysokým rozlišením)

= graf intenzita vs. m/z, absolutní intenzity nebo intenzity normalizované na maximální intenzitu (100 %)



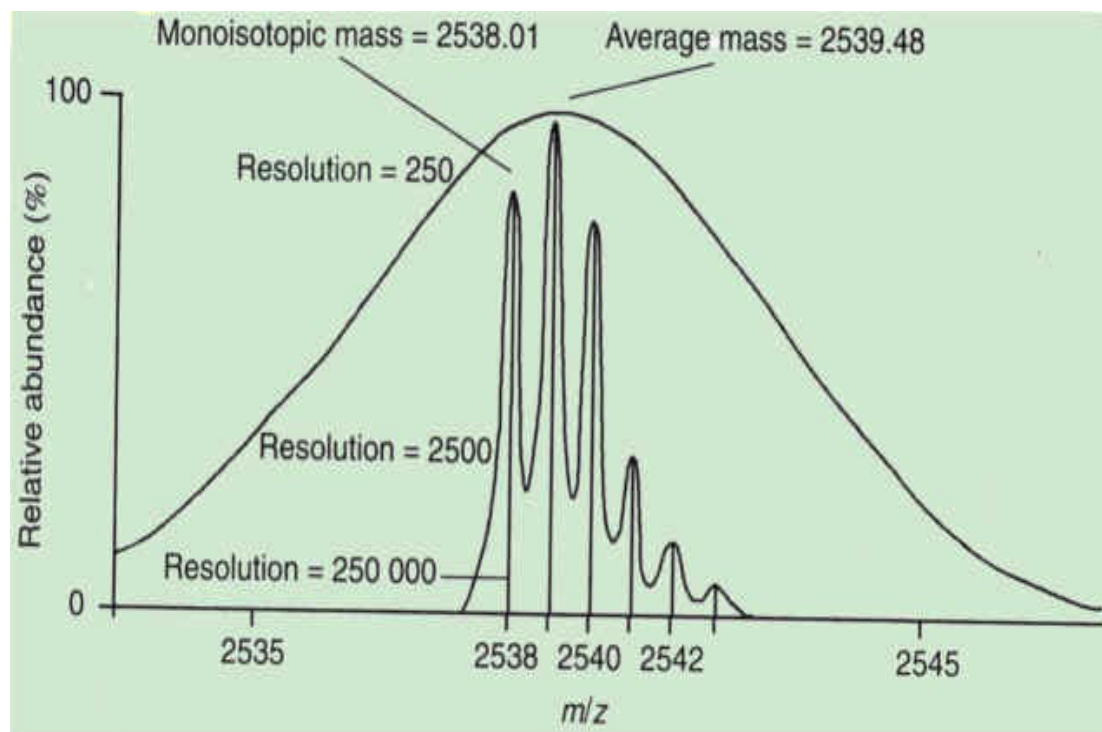
**Pro jednotlivé analyty jsou definovány:**

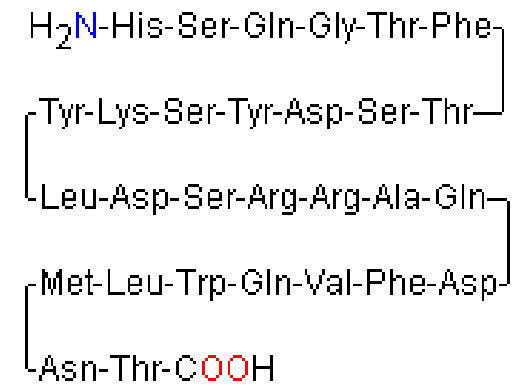
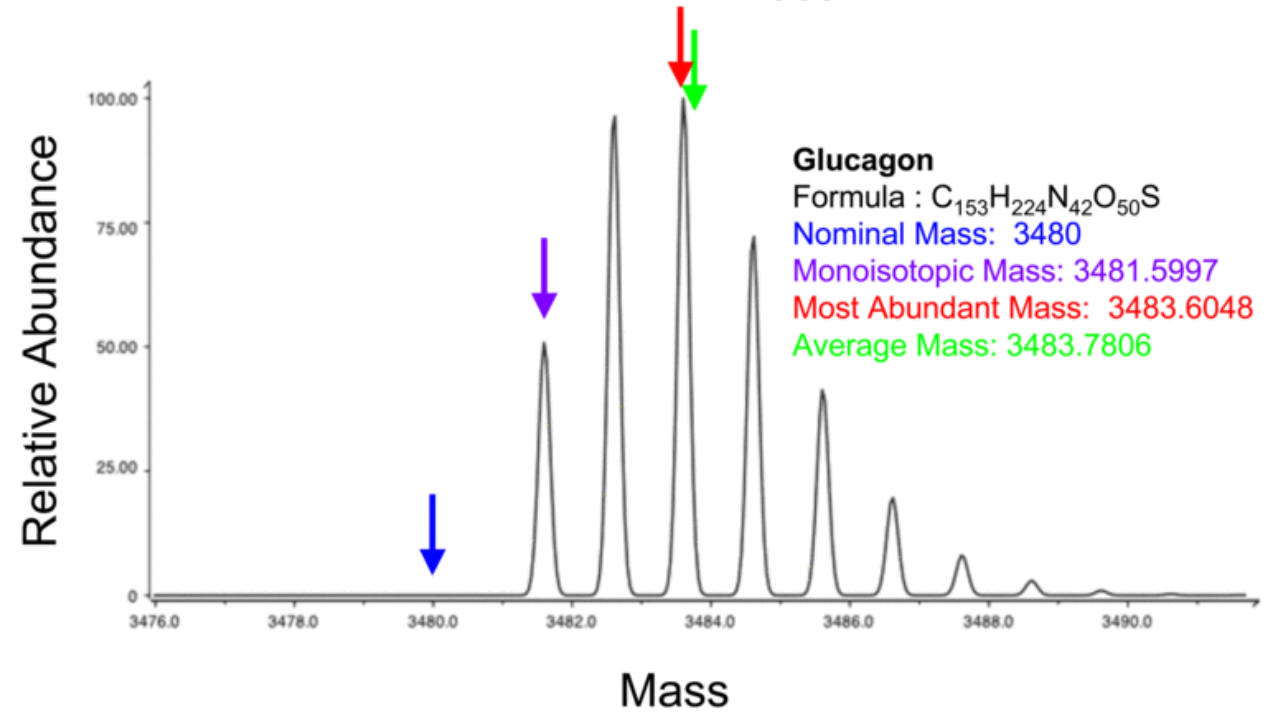
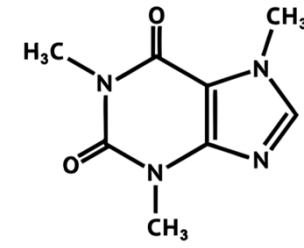
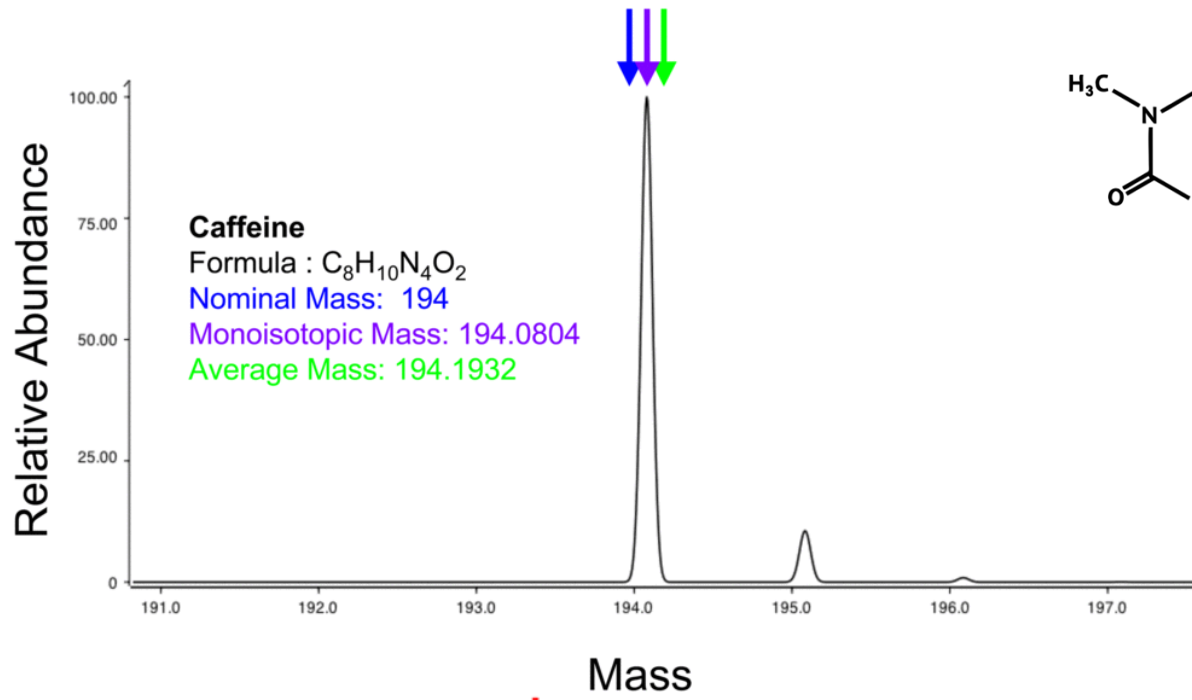
**Exaktní hmotnost (exact mass):** lze ji získat součtem hmotností jednotlivých izotopů molekuly. Např. exaktní hmotnost vody obsahující dva  $^1\text{H}$  a jeden  $^{16}\text{O}$  je  $1.0078 + 1.0078 + 15.9949 = 18.0105$ . Pokud nejsou specifikovány izotopy, vztahuje se k nejrozšířenějším z nich. Též **monoizotopická hmotnost (monoisotopic mass)**.

**Nominální hmotnost (nominal mass):** pro prvek hmotnost stabilního izotopu převažujícího v přírodě, pro molekulu je nominální hmotnost sumou nominálních hmotností jednotlivých atomů. Např. uhlík má 2 stabilní izotopy  $^{12}\text{C}$  zastoupený v přírodě 98.9% a  $^{13}\text{C}$  zastoupený 1.1%. Nominální hmotnost uhlíku je 12.

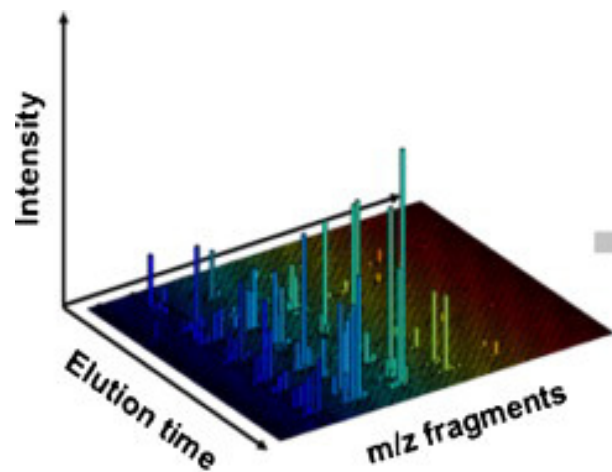
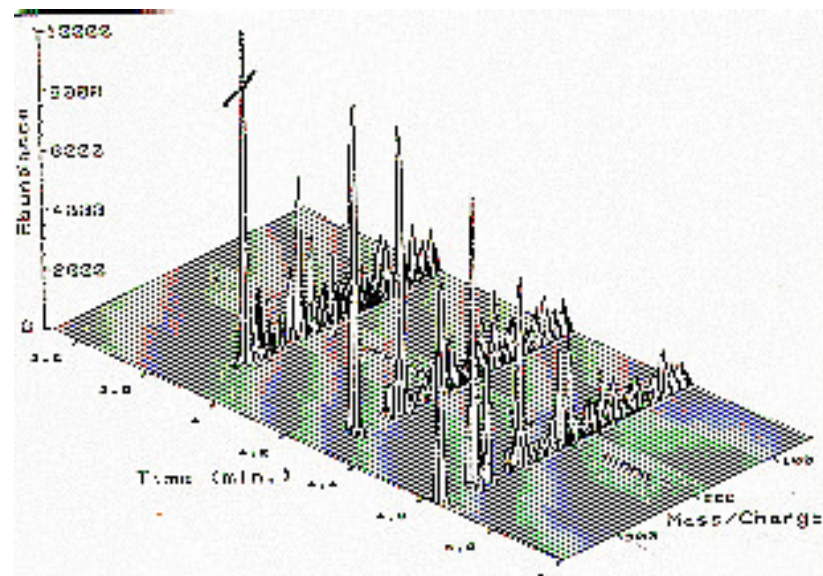
**Průměrná hmotnost (average mass):** získává se součtem průměrných atomových hmotností jednotlivých prvků. Např. průměrná hmotnost vody  $\text{H}_2\text{O}$  je  $1.00794 + 1.00794 + 15.9994 = 18.01528$ .

**Nejvíce zastoupená hmotnost (most abundant mass):** hmotnost molekuly s nejvíc v přírodě zastoupenou distribucí izotopů.

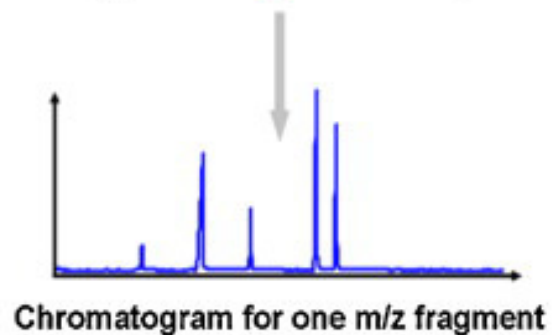
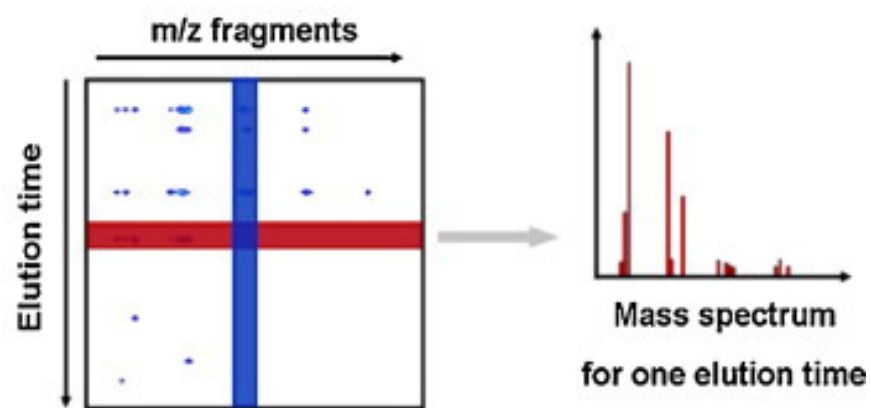




# Spojení se separačními metodami



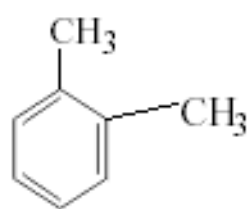
$$\text{SAMPLE} = X(I \times J)$$



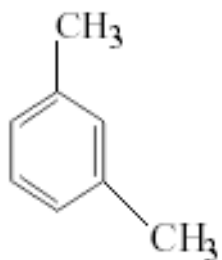


# Spojení se separačními metodami

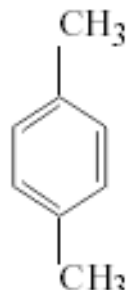
## GC-MS



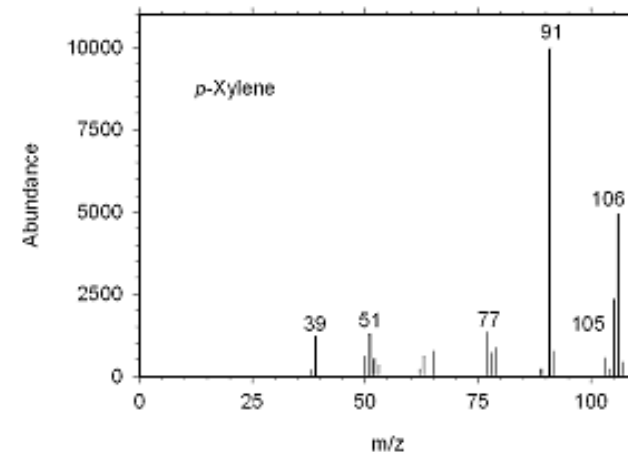
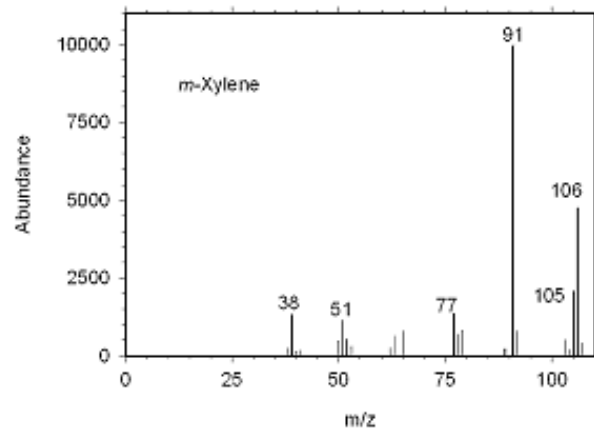
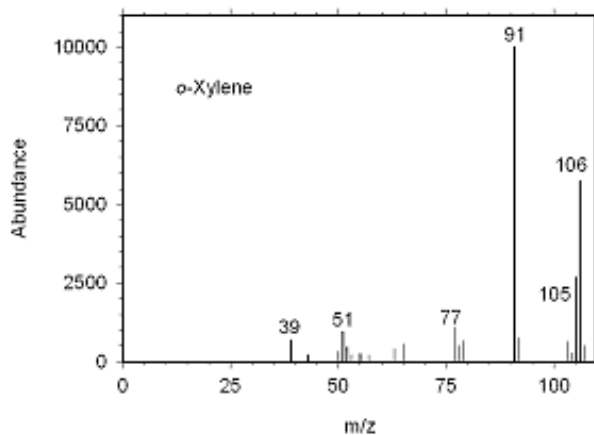
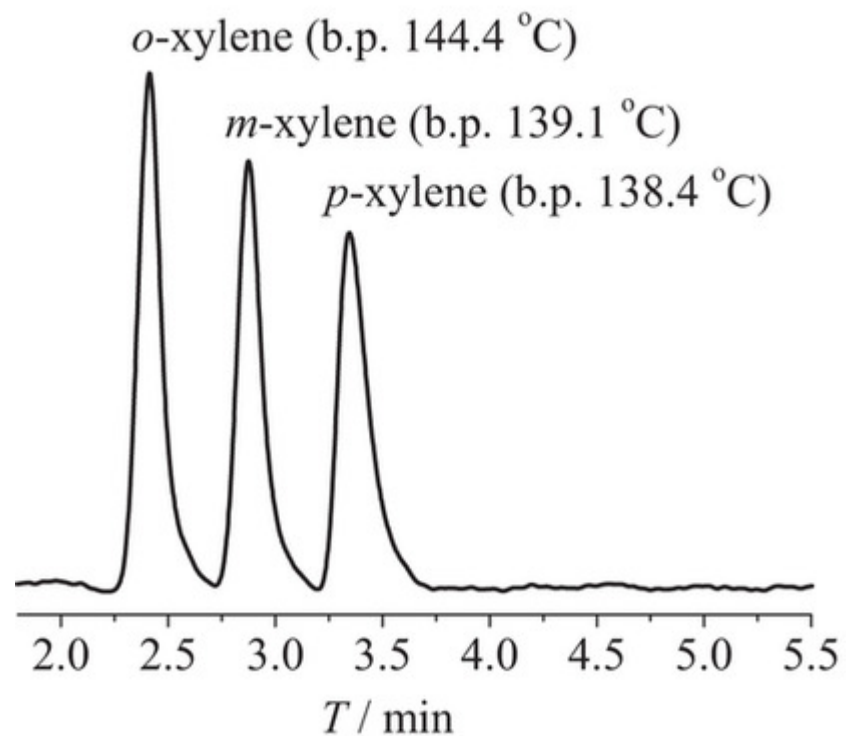
*o*-xylene



*m*-xylene



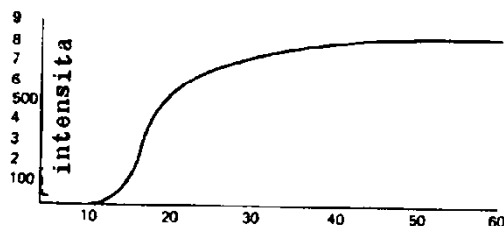
*p*-xylene





# Knihovny spekter

EI: pro energii 70 eV



Obrázek 2.2.

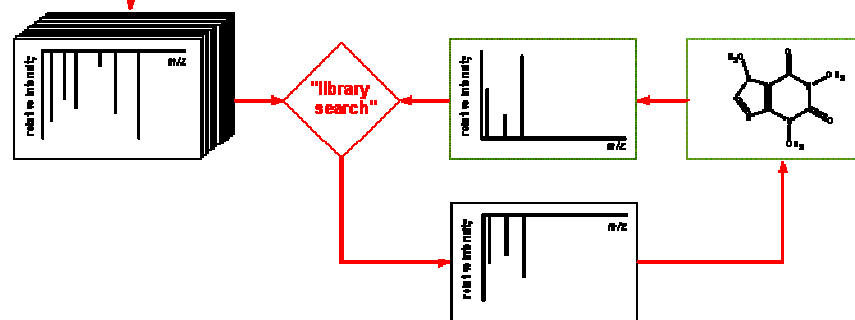
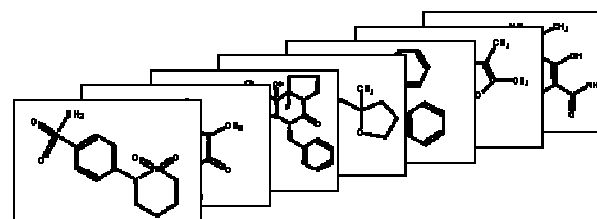
Účinnost ionisace octanu ethylnatého v závislosti na energii elektronového proudu.

Pouze po EI

GC-MS

Ne všechny sloučeniny jsou přítomny v databázi

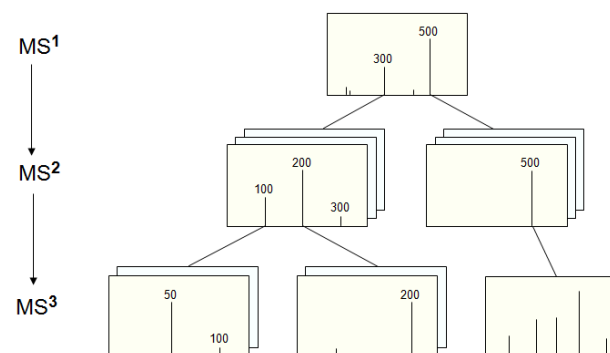
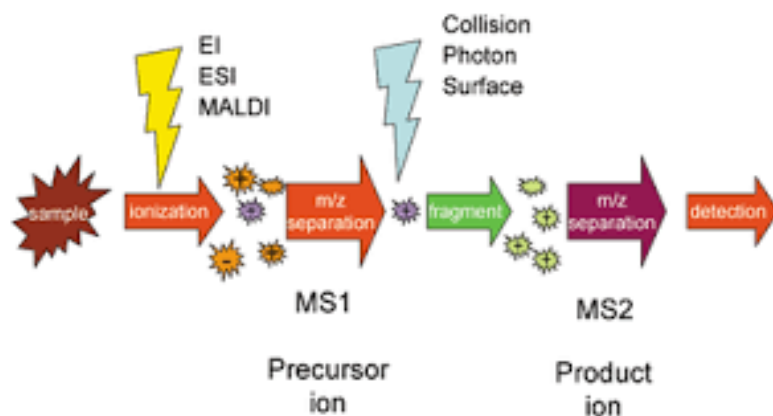
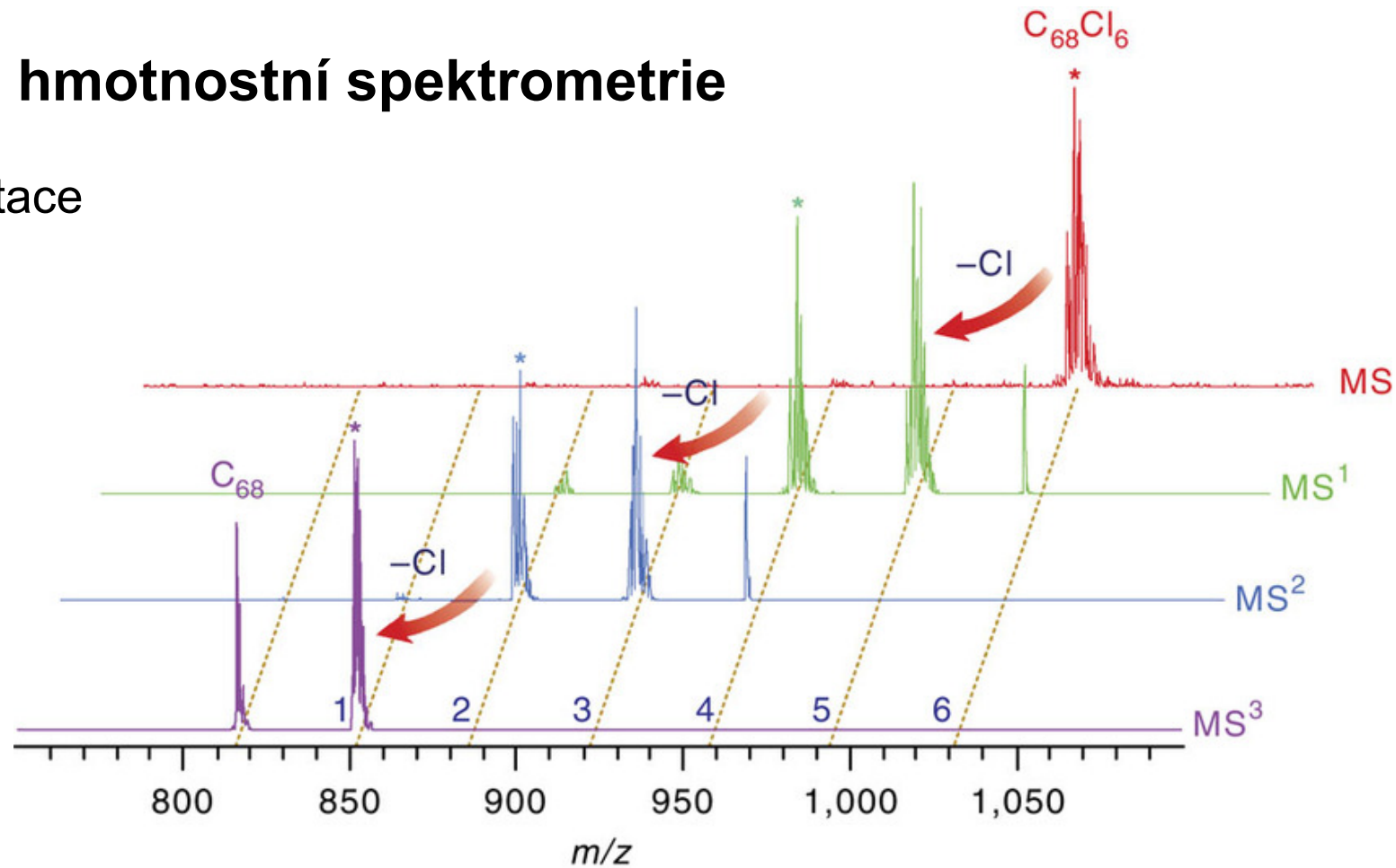
Vliv pozadí u malých píků



#	Lib.	Match	R.Mat.	Prob.	Name
01	M	999	999	94.2	Benzene, undecyl-
02	R	936	936	94.2	Benzene, undecyl-
03	R	927	929	94.2	Benzene, undecyl-
04	R	985	913	94.2	Benzene, undecyl-
05	R	811	877	1.43	Benzene, tetradecyl-
06	R	795	858	8.82	Benzene, dodecyl-
07	R	791	873	8.69	Benzene, hept-
08	M	731	801	8.69	Benzene, tridecyl-
09	M	783	846	8.51	Benzene, decyl-
10	M	788	843	8.59	Benzene, hept-
11	M	776	787	1.43	Benzene, tetradecyl-
12	R	775	862	8.38	Benzene, octyl-
13	R	772	835	8.69	Benzene, tridecyl-
14	R	771	834	8.51	Benzene, decyl-
15	M	778	829	8.82	Benzene, dodecyl-
16	R	763	849	1.43	Benzene, tetradecyl-

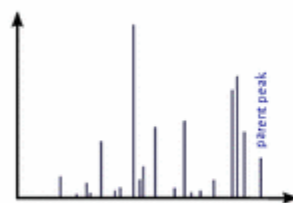
# Tandemová hmotnostní spektrometrie

MS<sup>n</sup> fragmentace

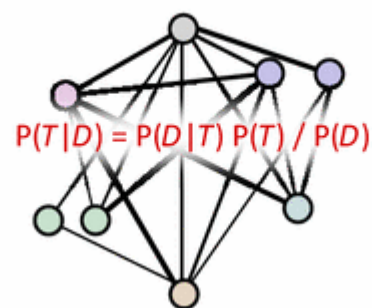


# Fragmentační stromy

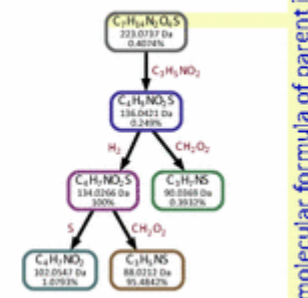
tandem mass spectrum



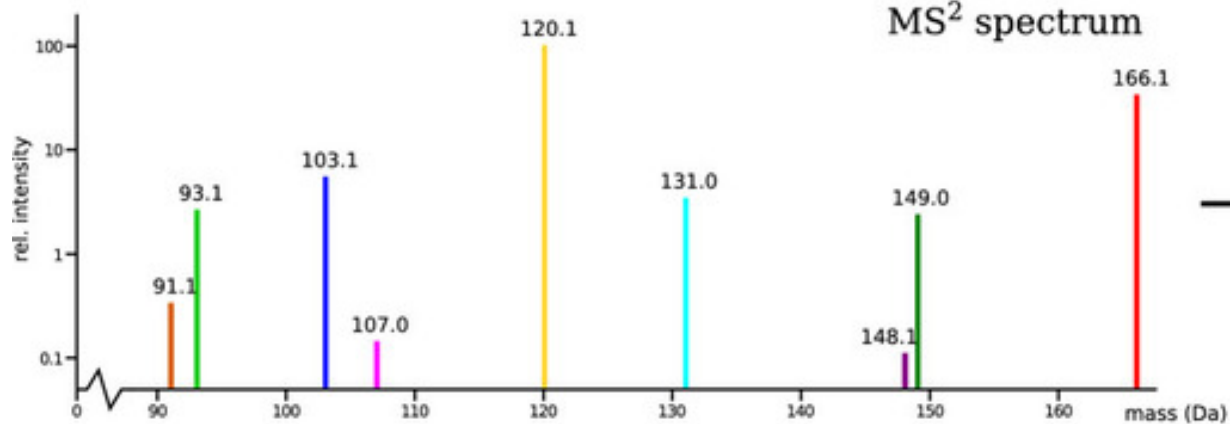
Bayesian statistics



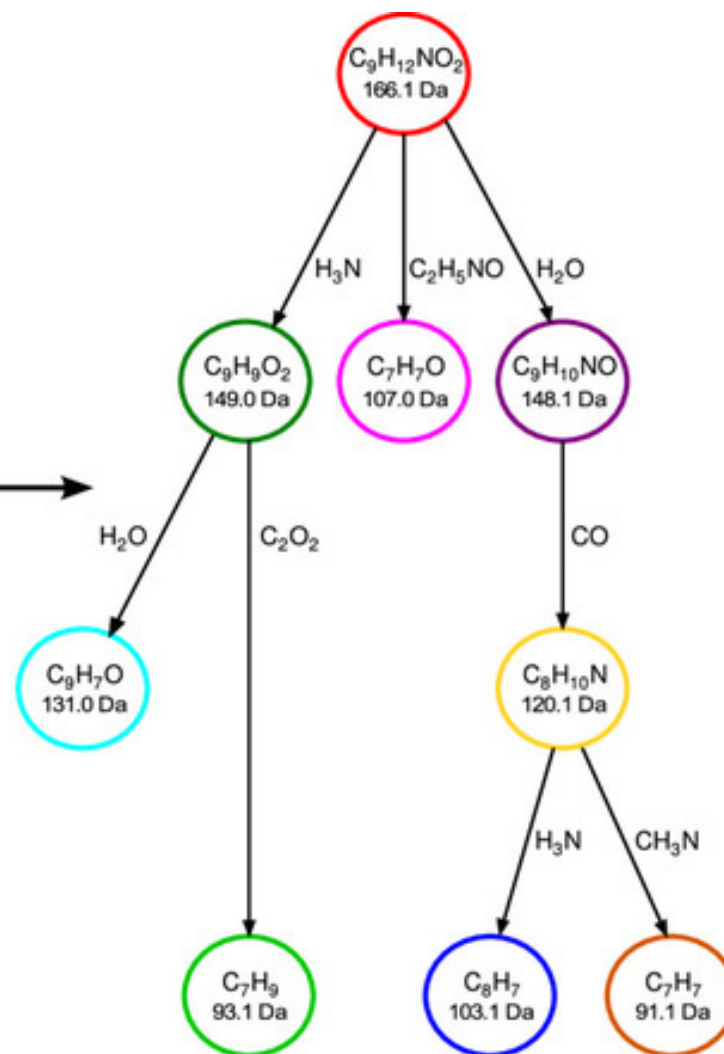
fragmentation tree



molecular formula of parent ion



MS<sup>2</sup> spectrum



# Izotopový pattern

# Izotopy v přírodě



TABULKA 3.1.

Přírodní zastoupení izotopů některých běžných prvků.

Prvek	Isotop	Zastoupení (%)	Prvek	Isotop	Zastoupení (%)
Vodík	1	99,985	Bor	10	19,6
Vodík	2	0,015	Bor	11	80,4
Uhlík	12	98,89	Dusík	14	99,63
Uhlík	13	1,11	Dusík	15	0,37
Kyslík	16	99,759	Fluor	19	100,000
Kyslík	17	0,037	Sodík	23	100,000
Kyslík	18	0,204	Křemík	28	92,21
Fosfor	31	100,000	Křemík	29	4,70
Chlor	35	75,53	Křemík	30	3,09
Chlor	37	24,47	Síra	32	95,0
Brom	79	50,54	Síra	33	0,76
Brom	81	49,46	Síra	34	4,22
Jod	127	100,000	Síra	36	0,014

# Izotopový pattern

**A prvky:** pouze jeden izotop (H, F, P, I, As).

**A+1 prvky:** následující těžší izotop vzdálen o 1  $m/z$  (C, N).

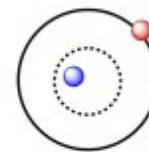
**A+2 prvky:** : následující těžší izotop vzdálen o 2  $m/z$  (O, Si, Cl, Br, S).

Element	A		A + 1		A + 2		Element type
	Mass	%	Mass	%	Mass	%	
H	1	100	2	0.015			"A"
C	12	100	13	1.1 <sup>b</sup>			"A + 1"
N	14	100	15	0.37			"A + 1"
O	16	100	17	0.04	18	0.20	"A + 2"
F	19	100					"A"
Si	28	100	29	5.1	30	3.4	"A + 2"
P	31	100					"A"
S	32	100	33	0.79	34	4.4	"A + 2"
Cl	35	100			37	32.0	"A + 2"
Br	79	100			81	97.3	"A + 2"
I	127	100					"A"

# Deuterované molekuly

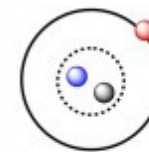
= používají se ke studiu metabolismu.

## Hydrogen Isotopes



$^1\text{H}$

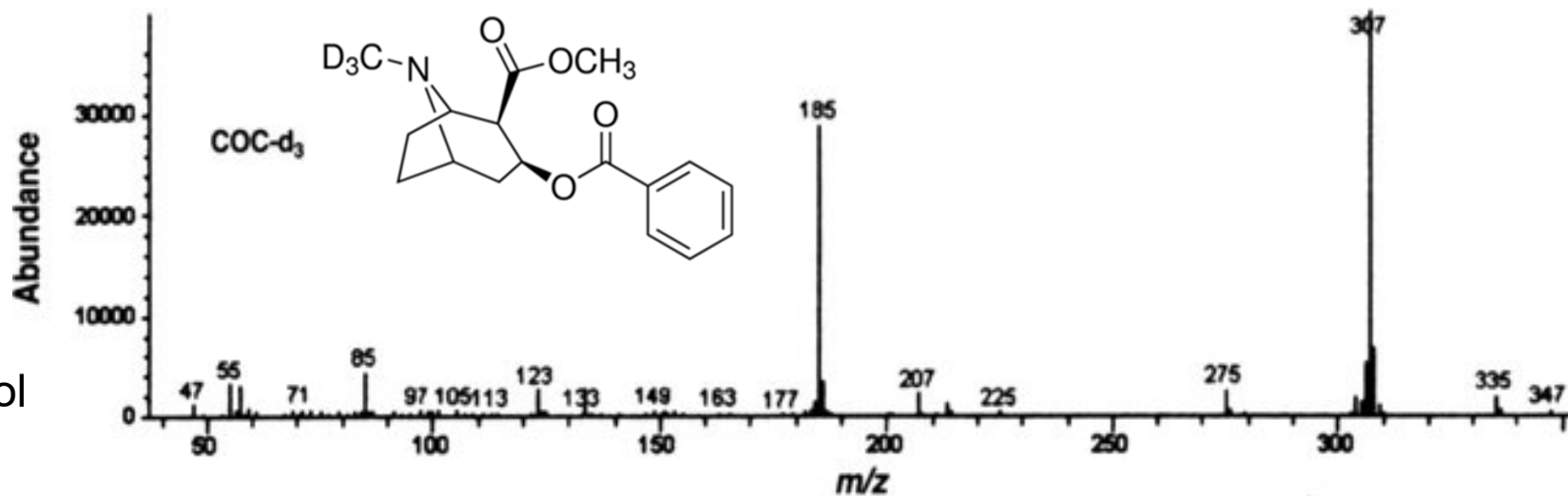
(normal hydrogen)



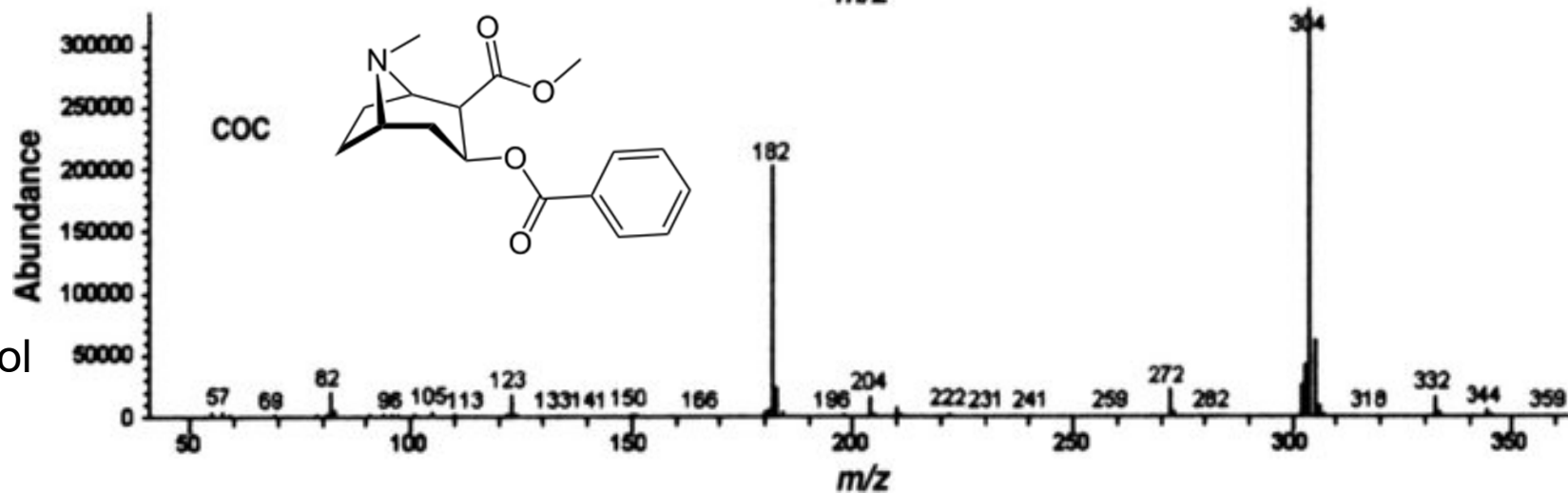
$^2\text{H}$

(heavy hydrogen, aka deuterium or D)

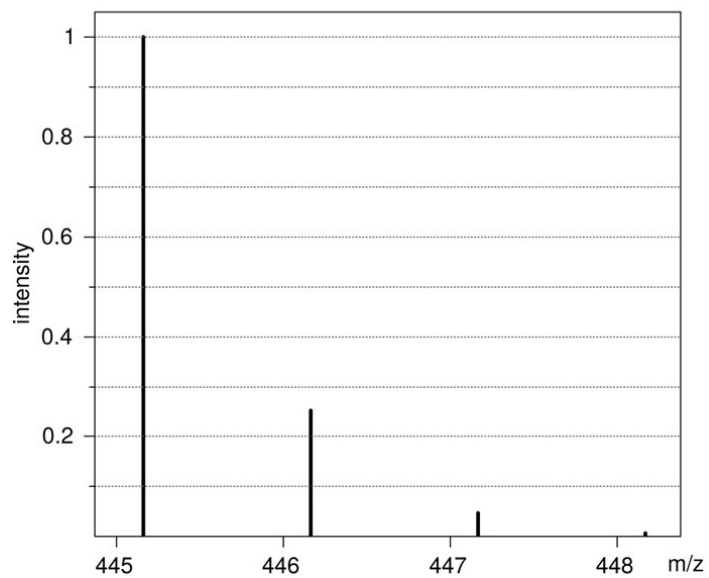
d3 kokain  
M = 306.38 g/mol



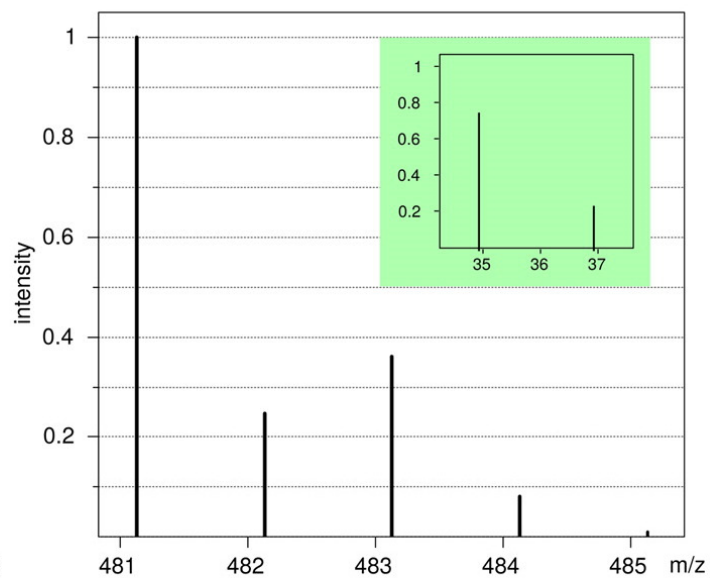
kokain  
M = 303.35 g/mol



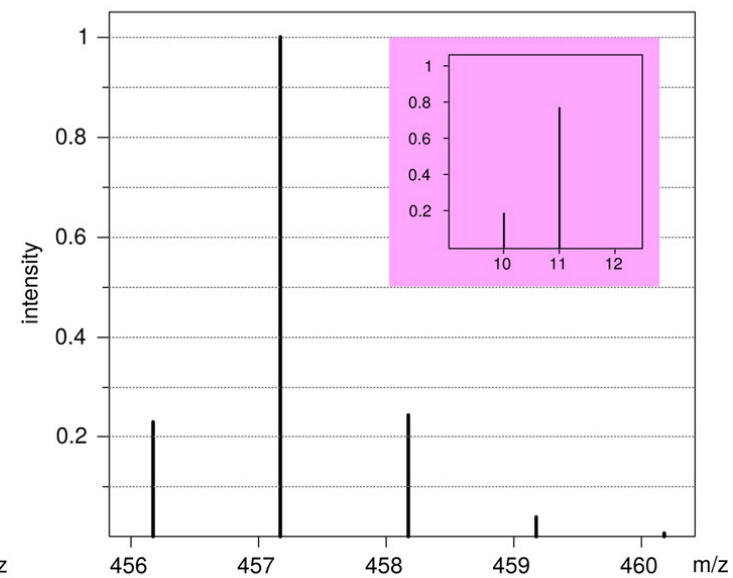
**C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>**



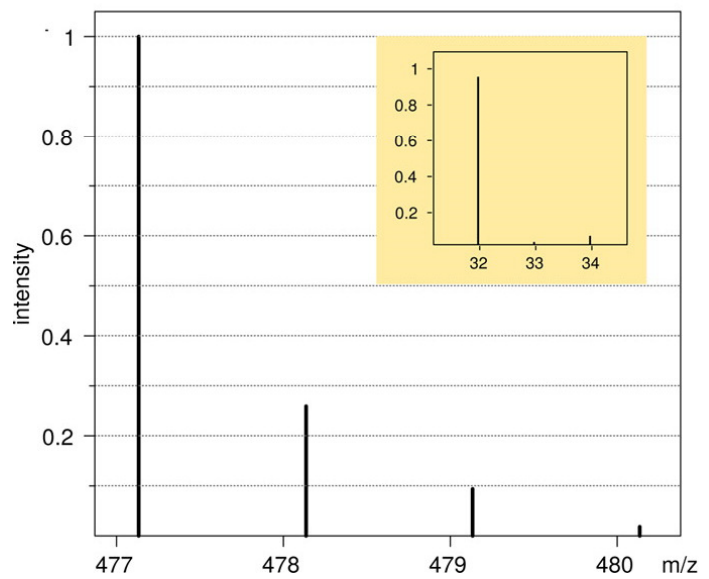
**C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>Cl**



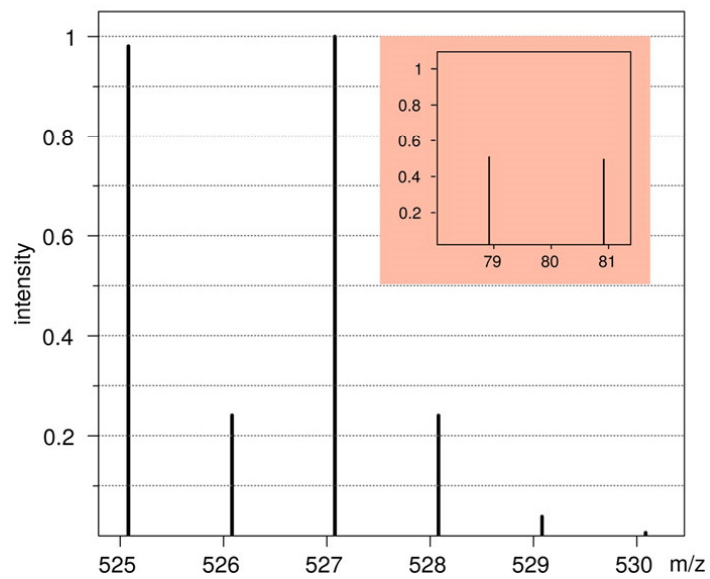
**C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>B**



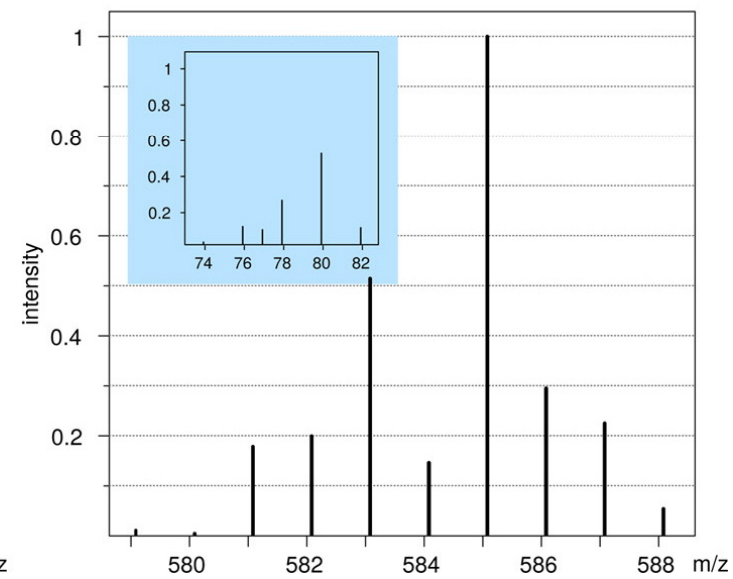
**C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S**



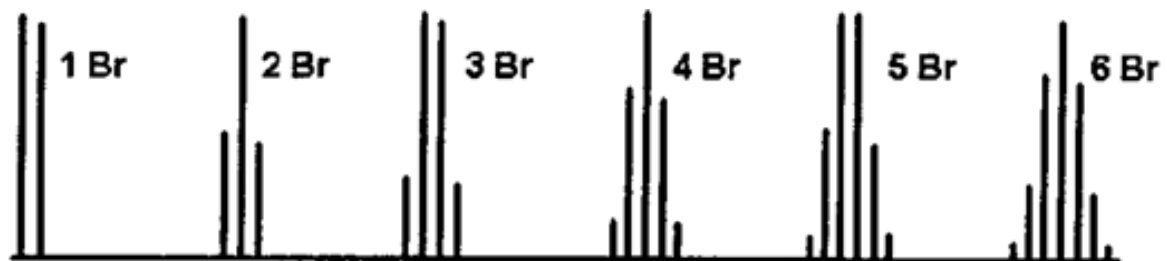
**C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>Br**



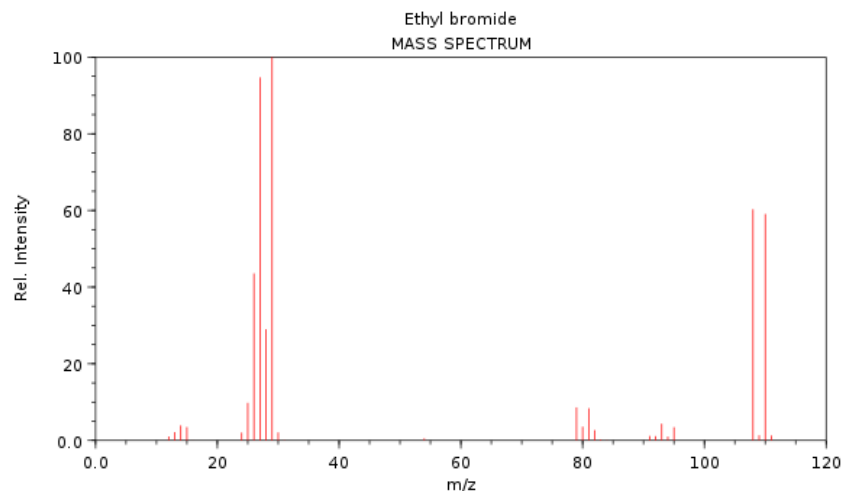
**C<sub>27</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>Se**



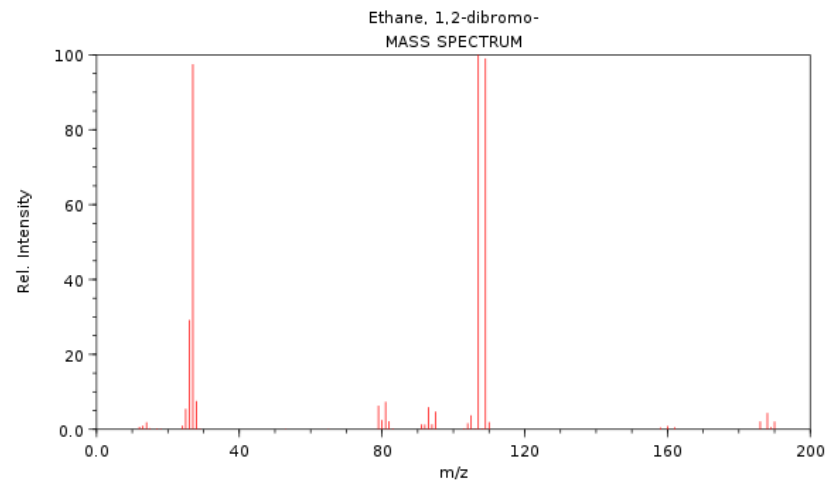




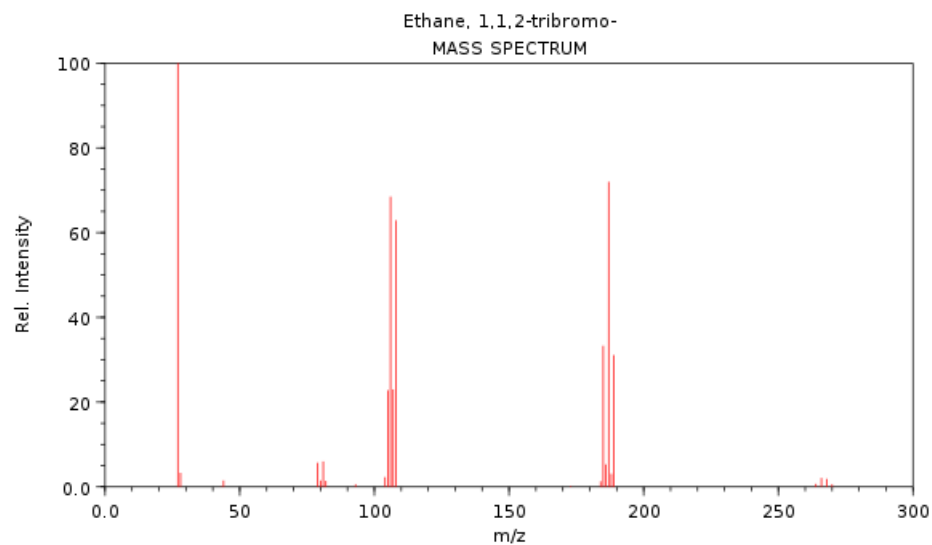
$$A_{\text{Br}} = 79.9 \text{ g/mol}$$



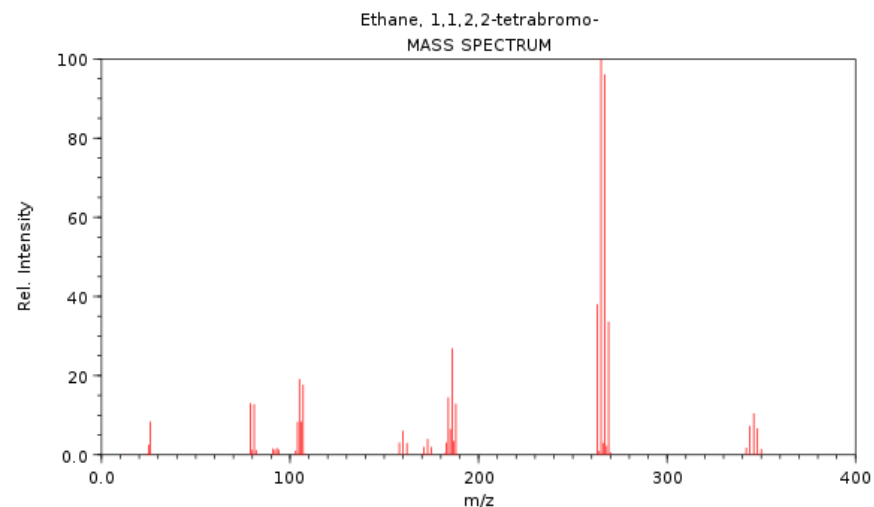
NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)



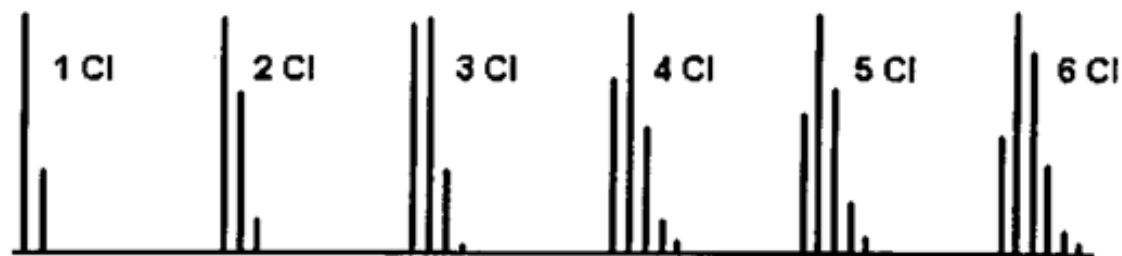
NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)



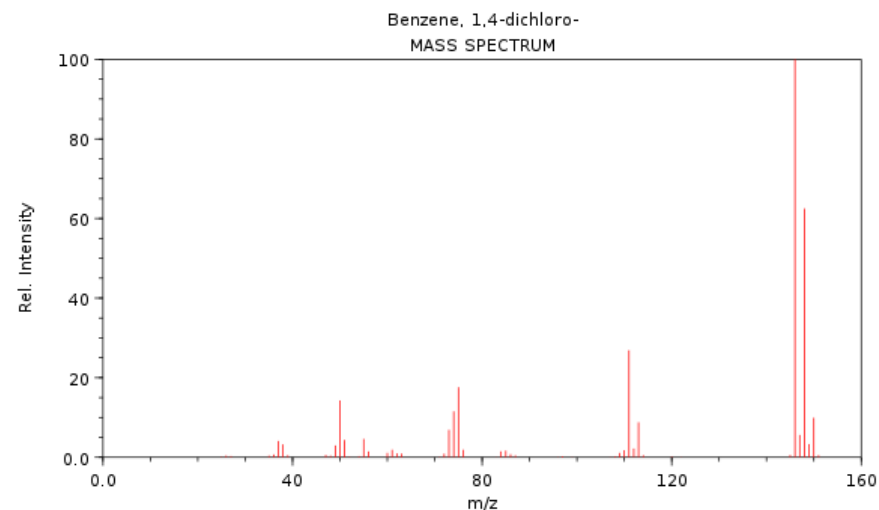
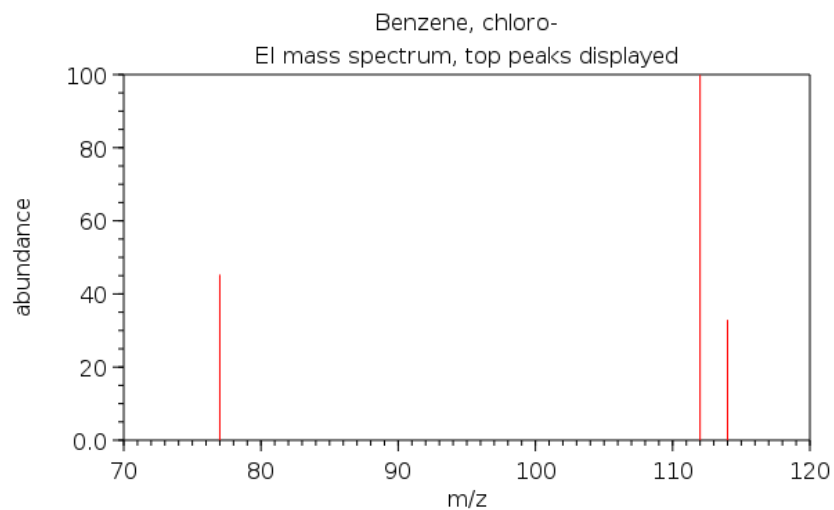
NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)



NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

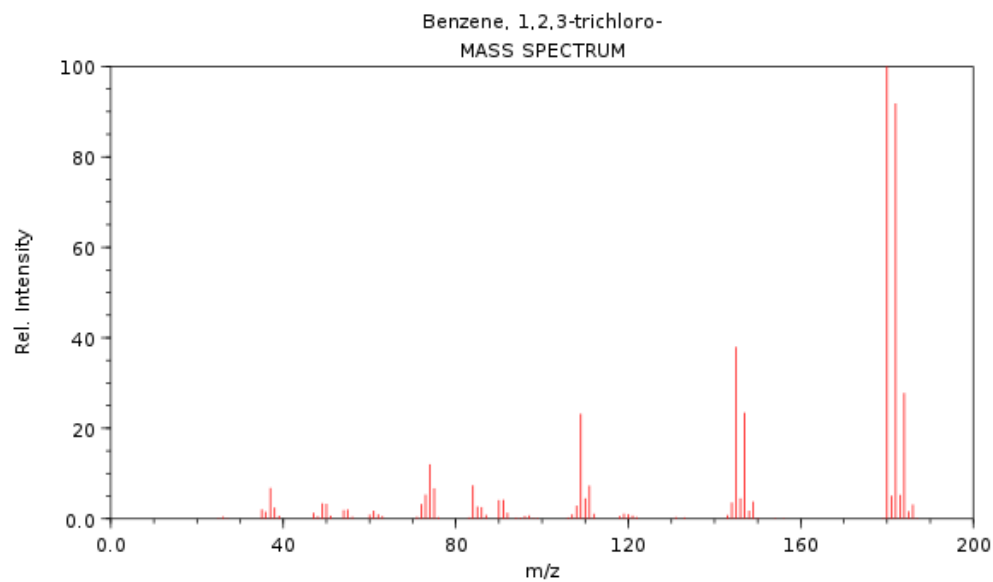


$$A_{\text{Cl}} = 35.45 \text{ g/mol}$$

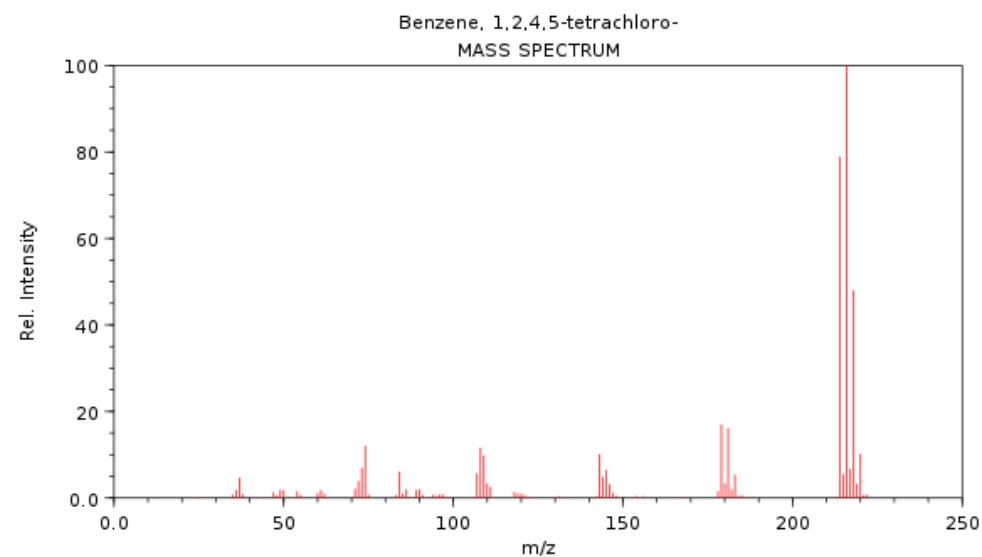


NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

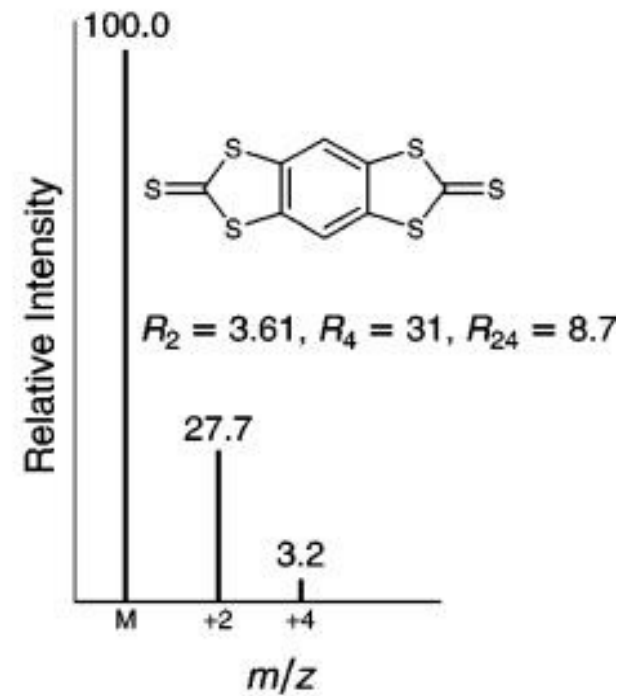
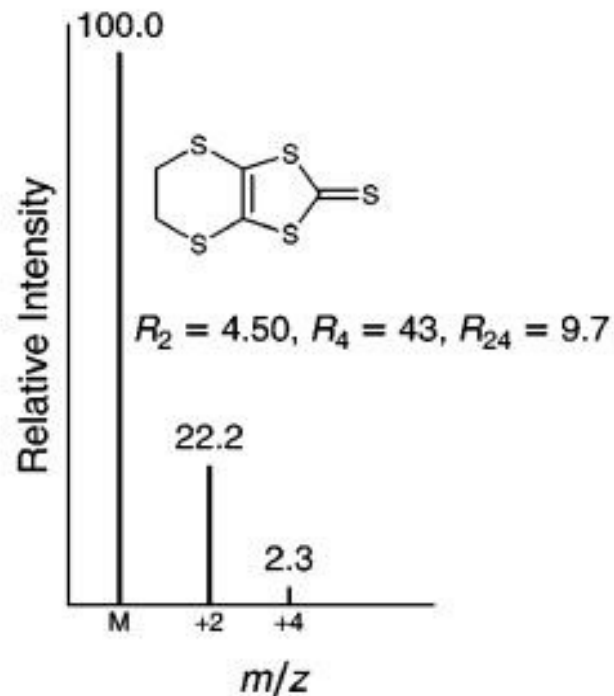
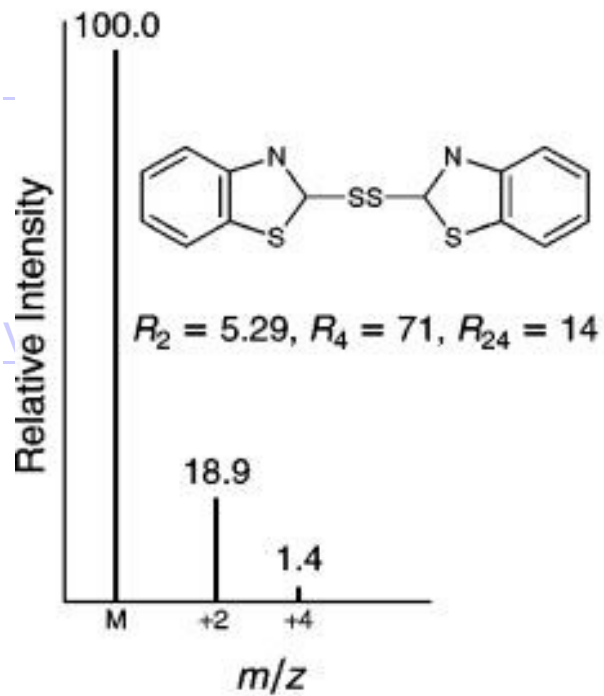
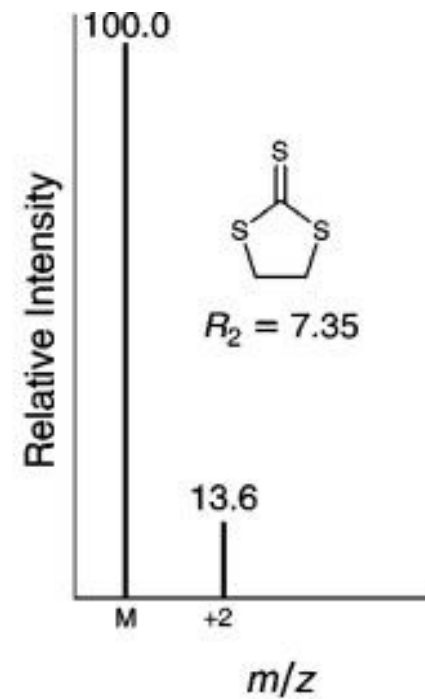
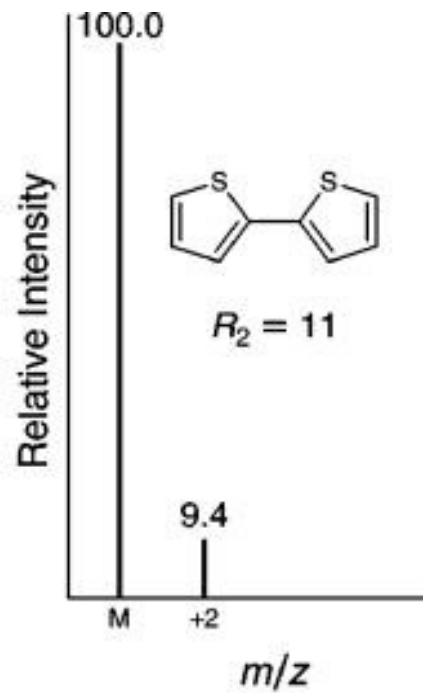
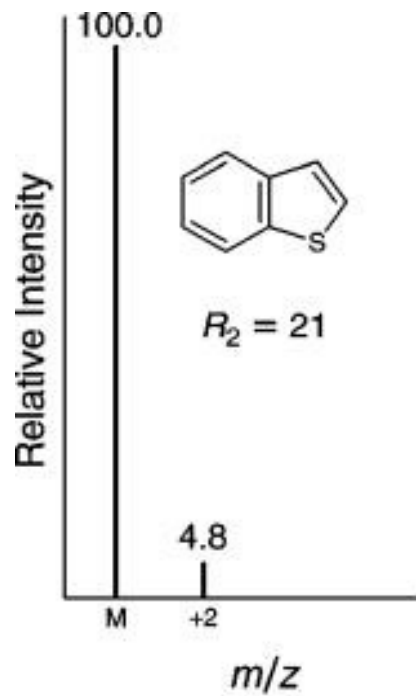
© 2014 by the U.S. Secretary of Commerce.



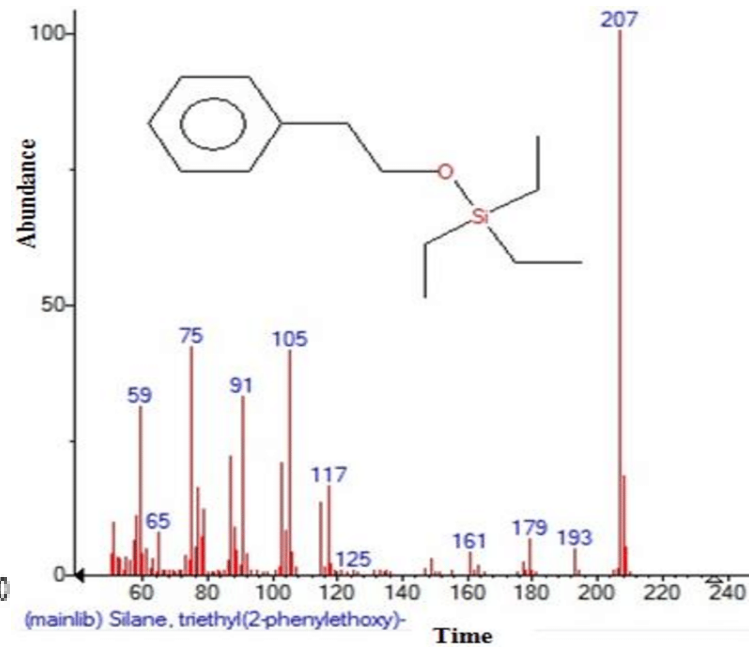
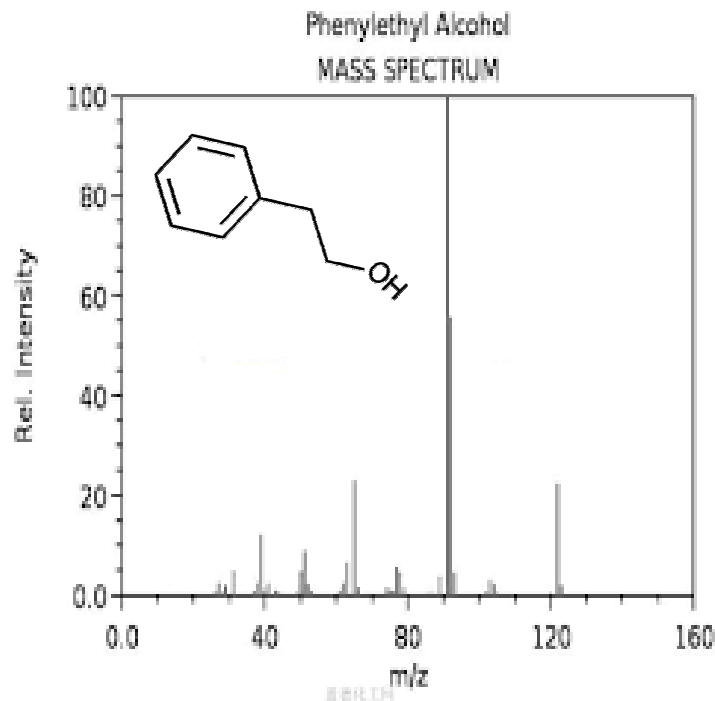
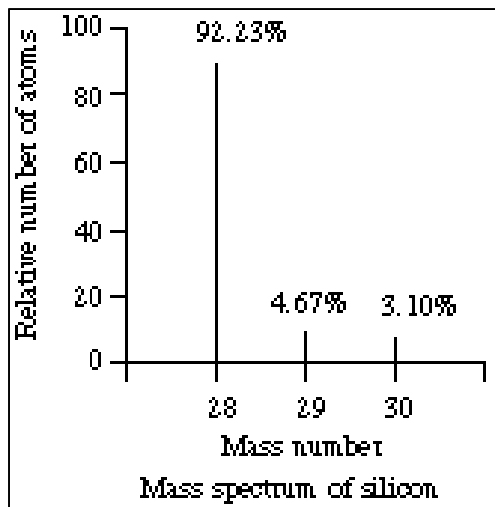
NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)



NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)



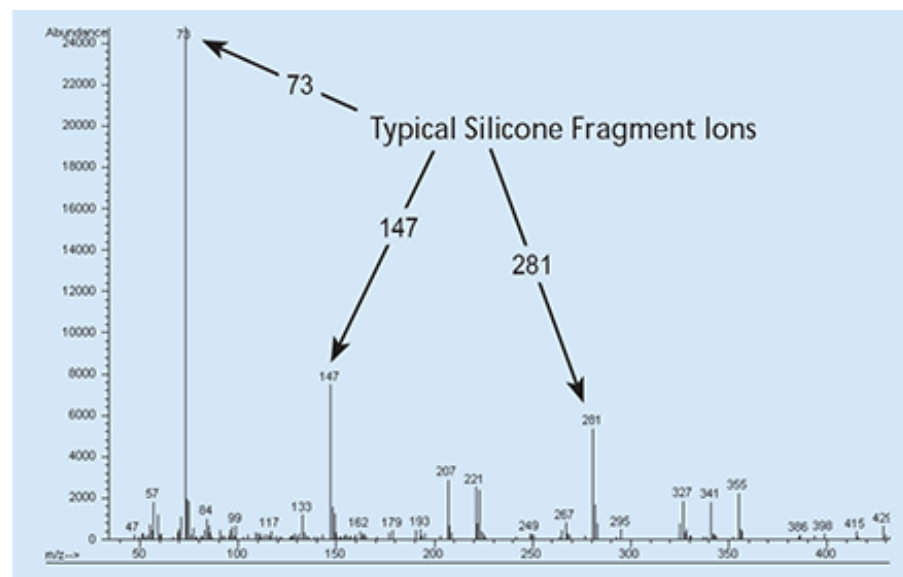
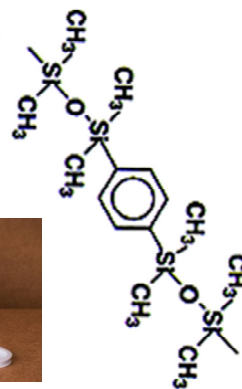
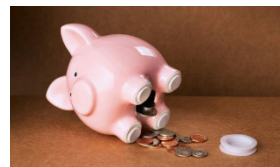
# Silyl deriváty



## Kontaminace vzorků a “ghost” píky

“krvácení” kolony (bleeding)

(5MS Methylpolysiloxan)



## A+2 píky

Pokud je  $100 \cdot (M+2)/M < 3\%$  pík M nemůže obsahovat nejčastější izotopy Si, S, Cl a Br. K vizualizaci lze využít poměry resp. grafy M vs. M+2, M+1 vs. M+2, M+2 vs. M+3, apod.

## A+1 píky

Maximální počet atomů uhlíku

$$C_{\max} = 100 \cdot (I_{M+1}) / (1.1 \cdot I_M)$$

Toluen,  $C_7H_8$

M = 92.14 g/mol

$$C_{\max} = 100 \cdot (6.1) / (1.1 \cdot 76.3) = 7.27$$

Salicylaldehyd,  $C_7H_6O_2$

M = 122.12 g/mol

$$C_{\max} = 100 \cdot (7.9) / (1.1 \cdot 100) = 7.18$$

methyljodid,  $CH_3I$

M = 141.94 g/mol

$$C_{\max} = 100 \cdot (1.1) / (1.1 \cdot 100) = 1$$

p-nitro acetofenon,  $C_8H_7NO_3$

M = 165.15 g/mol

$$C_{\max} = 100 \cdot (1.6) / (1.1 \cdot 18) = 8.08$$

Kyselina tereftalová,  $C_8H_6O_4$

M = 166.13 g/mol

$$C_{\max} = 100 \cdot (7.9) / (1.1 \cdot 86) = 8.35$$

**Molekulový pík**

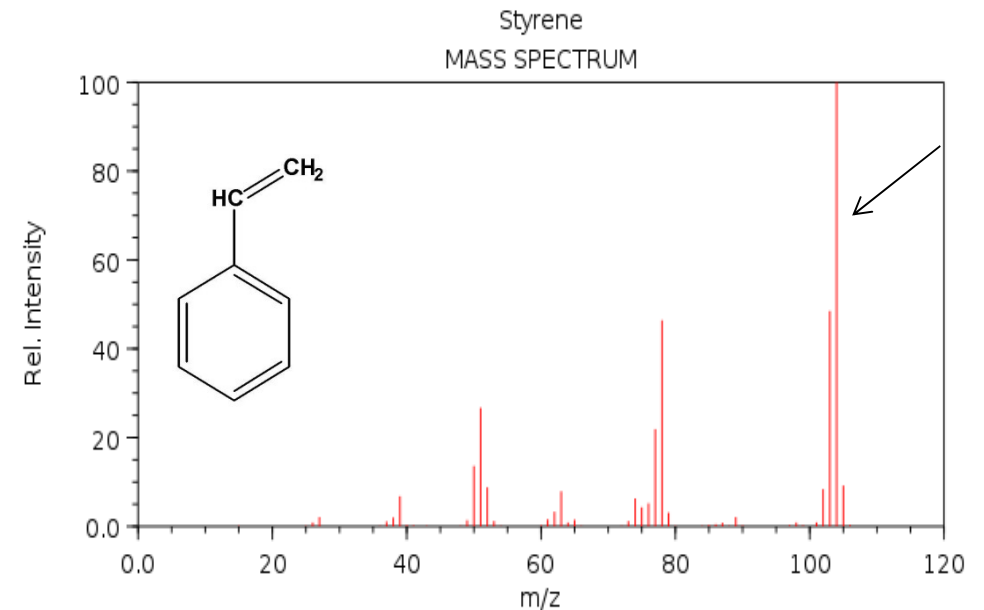
# Stabilita molekulového píku

**Molecular ion lifetime**

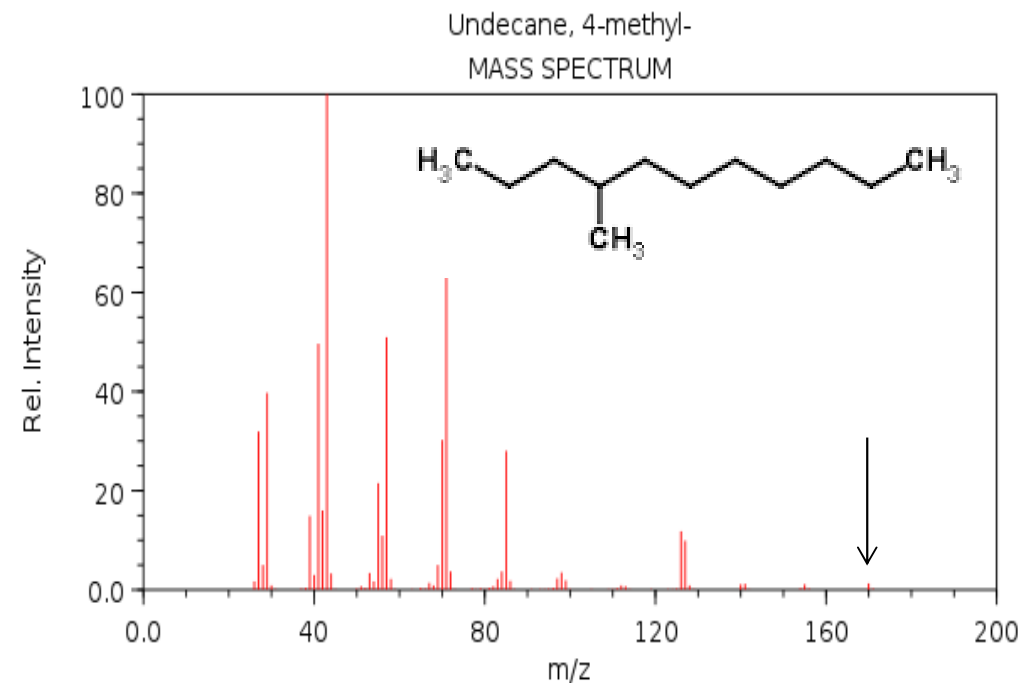


- Aromatic compounds
- Conjugated alkenes
- Alicyclic compounds
- Organic sulfides
- Unbranched hydrocarbons
- Mercaptans
- Ketones
- Amines
- Esters
- Ethers
- Carboxylic acids
- Branched hydrocarbons
- Alcohols

styren  $M = 104 \text{ g/mol}$   
 4-methyl undekan  $M = 170 \text{ g/mol}$



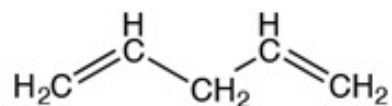
NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)



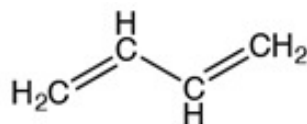
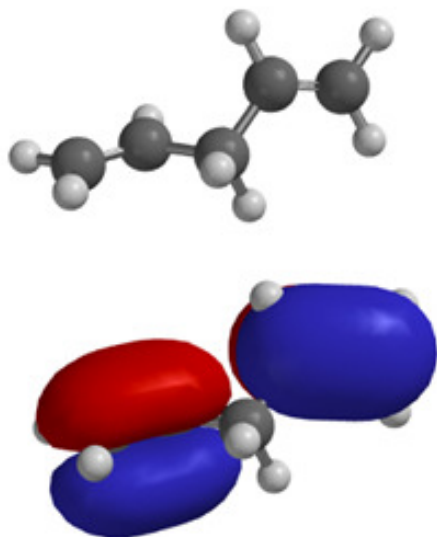
NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

# Stabilita molekulového píku

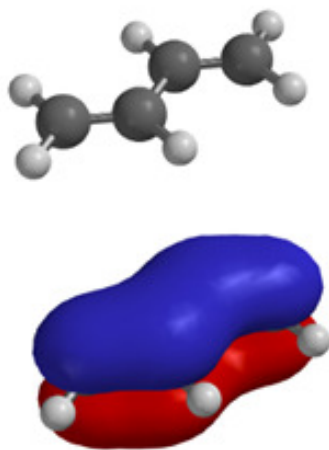
Ionty jsou stabilizovány zejm. konjugací násobných vazeb a aromatickým systémem vazeb.



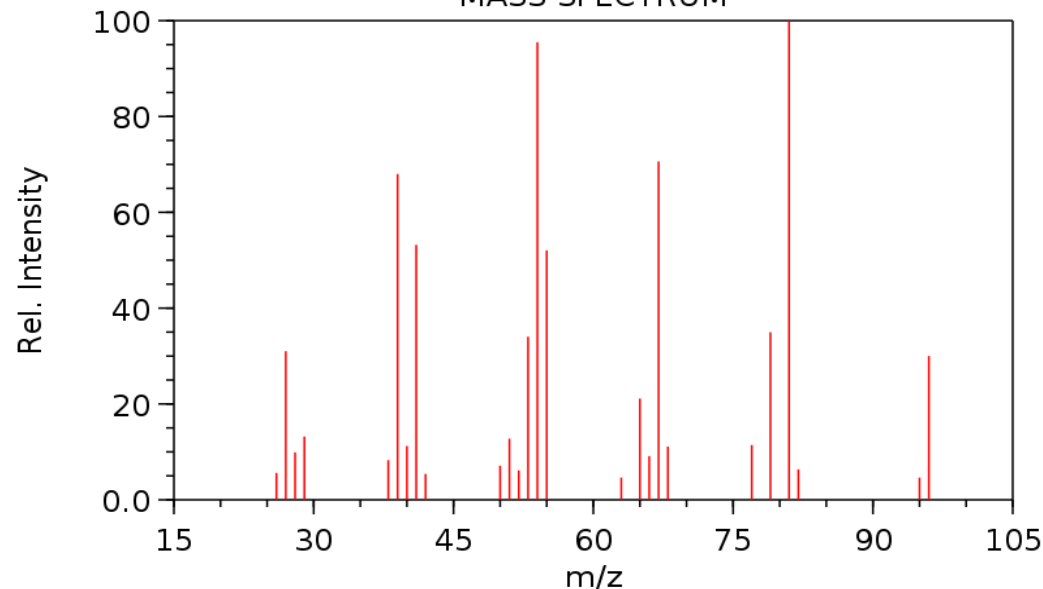
No Pi Electron Delocalization Because  $-\text{CH}_2-$  Group Between Pi Bonds. Less Stable Pi Bonds.



Pi Electron Delocalization. More Stable Pi Bonds.

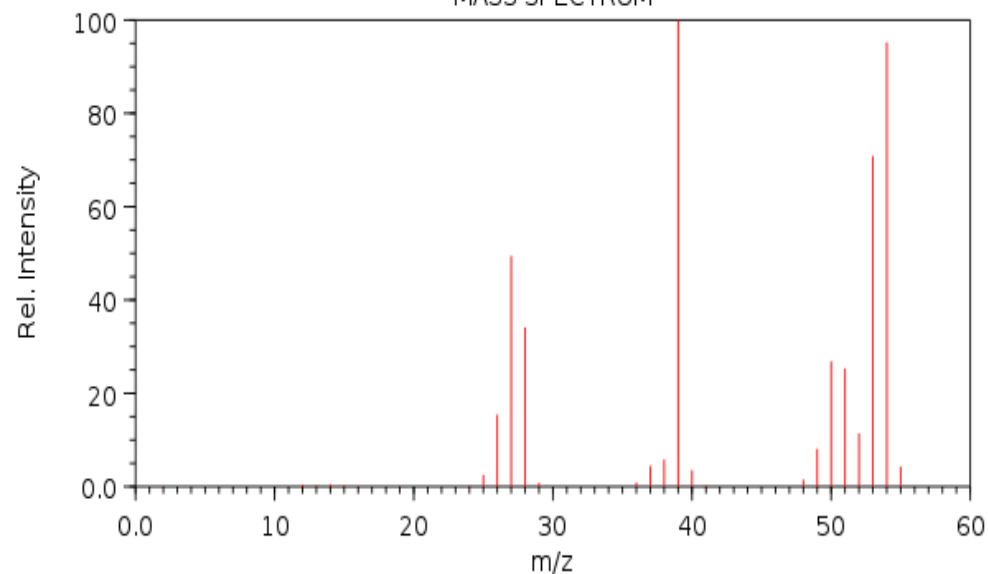


1,4-Heptadiene  
MASS SPECTRUM



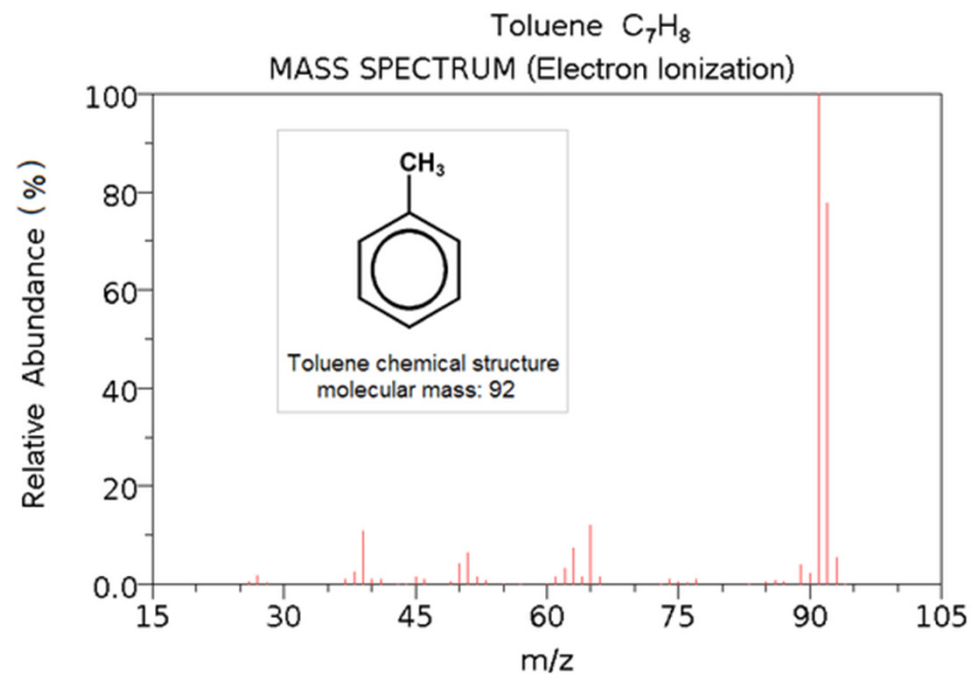
NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)

1,3-Butadiene  
MASS SPECTRUM

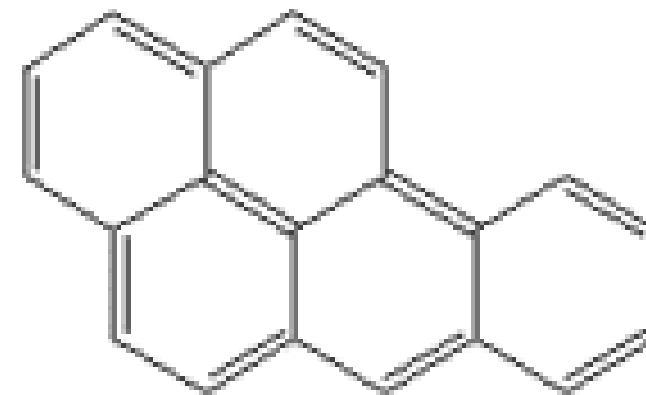
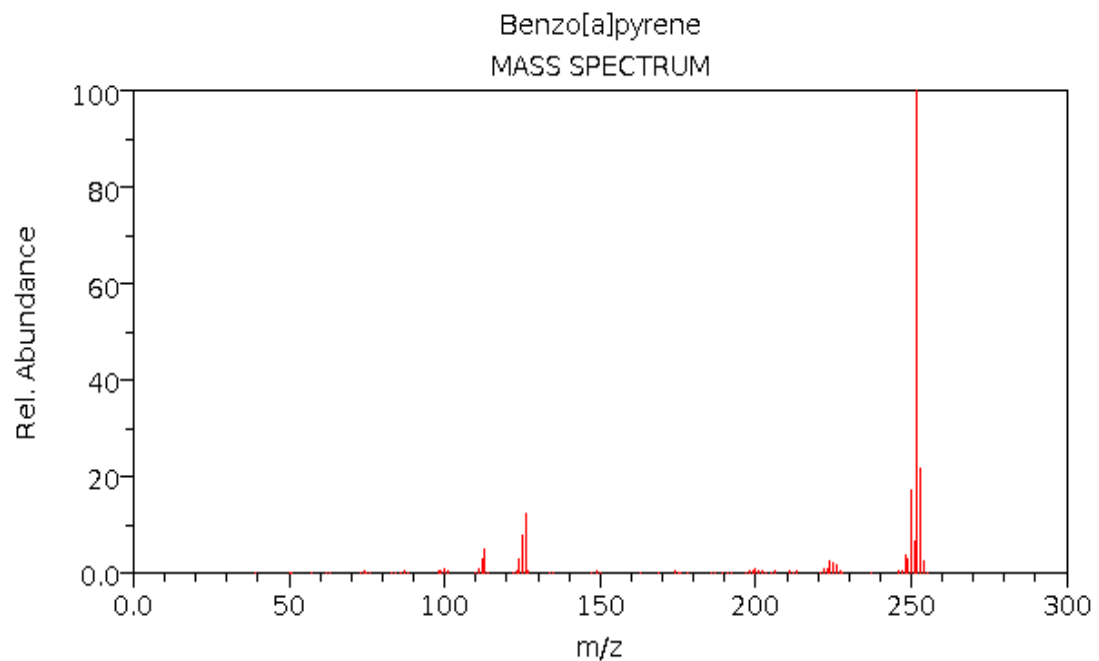
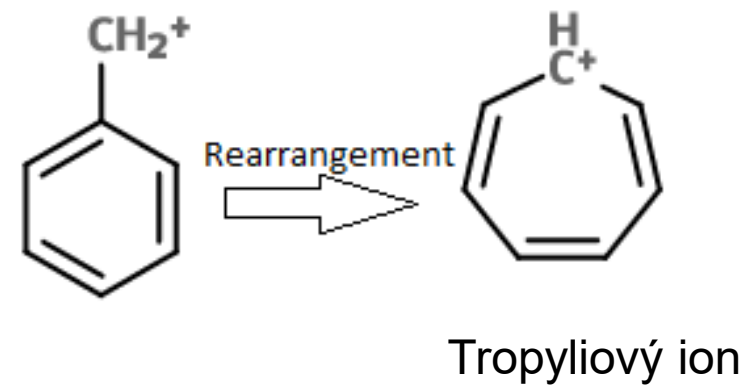


NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)





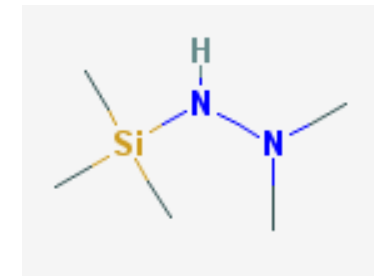
NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)



NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)

# Metoda nízké voltáže

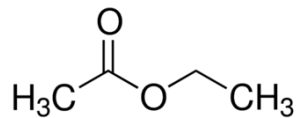
= postupné snižování energie ionizujících elektronů až na hodnotu ionizačních energií přítomných látek.  
Intenzity fragmentových iontů se budou postupně snižovat až ve spektru zůstanou pouze molekulové píky.



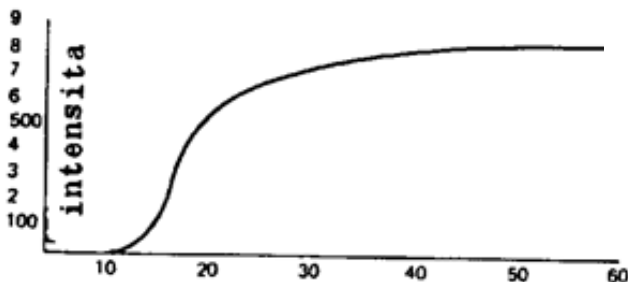
1,1-dimethyl-2-(trimethylsilyl)hydrazin  
M = 182 g/mol

Dissociační energie vazeb v eV.

Molekula	Energie	Molekula	Energie
CH <sub>3</sub> - H	4,38	CH <sub>3</sub> - CH <sub>3</sub>	3,60
CH <sub>3</sub> - OH	3,94	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> - SH	3,00
CH <sub>3</sub> - CN	4,64	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub> - H	3,48
CH <sub>3</sub> - NH <sub>2</sub>	3,47	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> - C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	3,70



Ethylacetát  
M = 88 g/mol

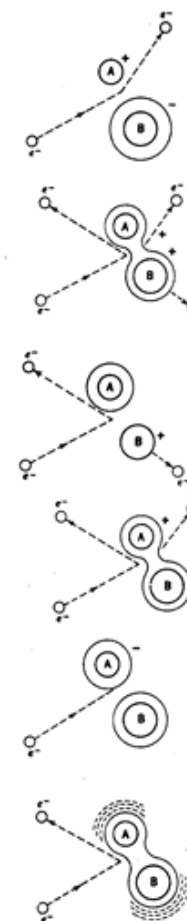


energie elektronu (eV)  
HETEROLYTICKÁ DISSOCIAČNÍ  
ENERGIE VAZBY

25-35 eV

IONIZAČNÍ POTENCIÁL MOLEKULY  
cca 8,5 až 14 eV

NĚKOLIK PÁSEM V ROZMEZÍ  
0,01 až 2 eV do 10 eV



VZNIK  
IONTOVÉHO  
PÁRU

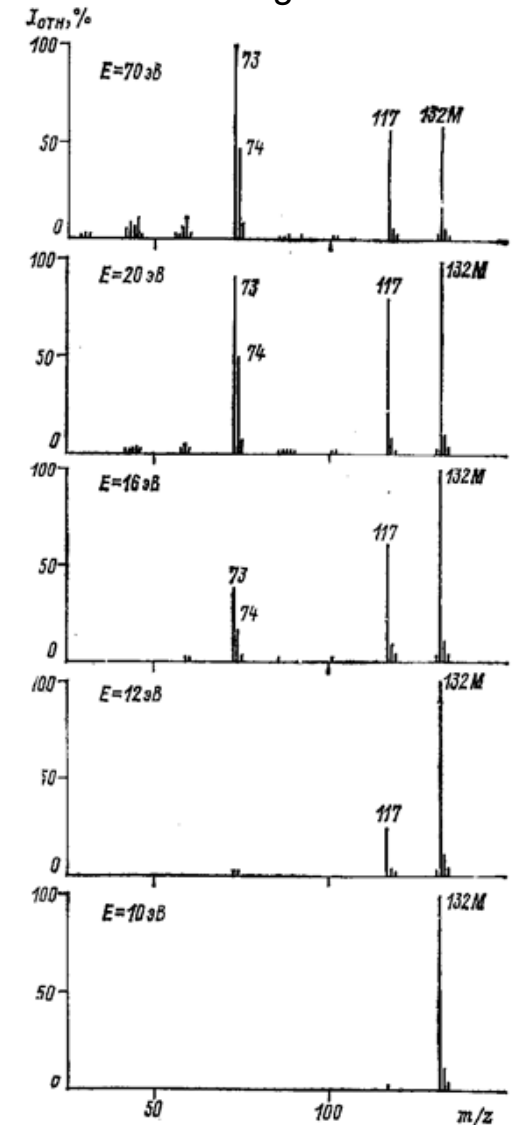
DVOJITÁ  
IONISACE

DISSOCIAČNÍ  
IONISACE

IONISACE

DISSOCIAČNÍ  
ELEKTRONOVÝ  
ZÁCHYT

EXCITACE





# Pseudomolekulární píky

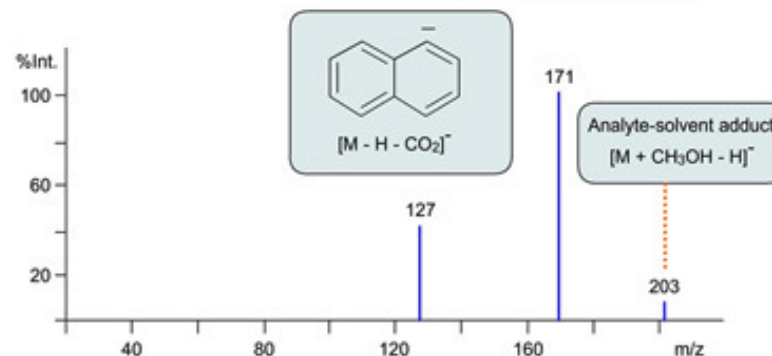
Molekulový ion-radikál  $M^+$  má ve spektru nejvyšší hmotnost, pokud nepočítáme izotopové ionty. Neplatí to pro některé ionizační techniky, kdy vznikají ionty aduktů – **pseudomolekulární ionty**.

## A. EI s chemickou ionizací

REAKČNÍ PLYN	PROTONOVÁ AFINITA (KJ/MOL)	HLAVNÍ REAKČNÍ IONTY	PSEUDOMOLEKULÁRNÍ IONTY
methan	533	$[CH_3]^+$ , $[C_2H_5]^+$ , $[C_3H_5]^+$	$[M+1]^+$ , $[M+29]^+$ , $[M+41]^+$
isobutan	826	$[C_4H_9]^+$	$[M+57]^+$ , $[2M+H]^+$
amoniak	860	$[NH_4]^+$ , $[NH_3+NH_4]^+$ , $[2NH_3+NH_4]^+$	$[M+NH_4]^+$

## B. měkké ionizační techniky ESI, MALDI, APCI, aj.:

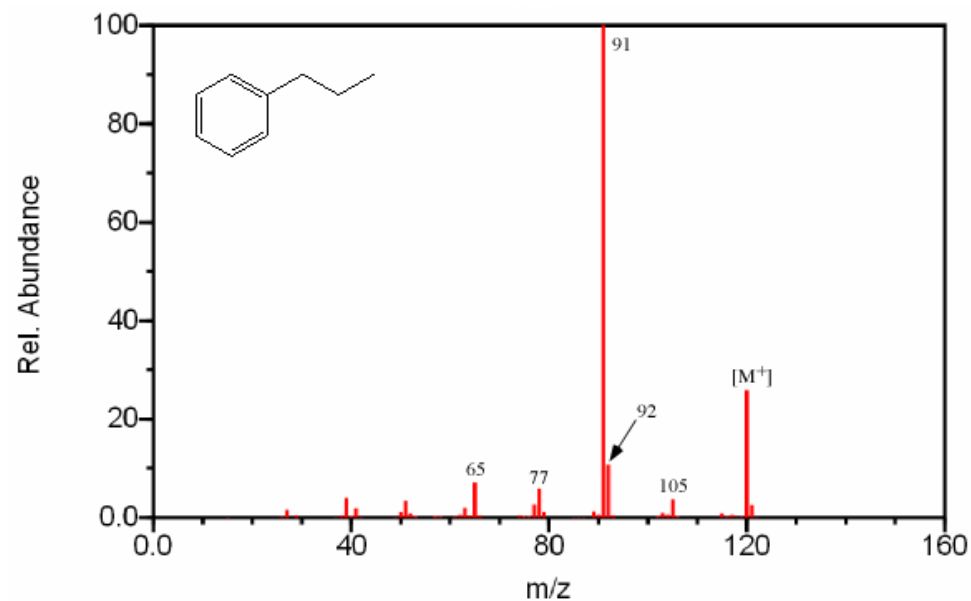
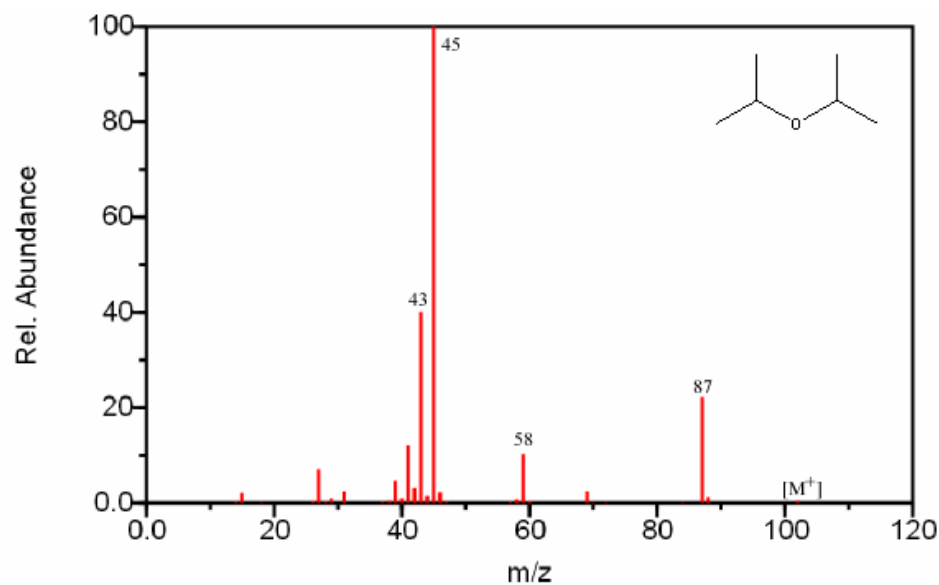
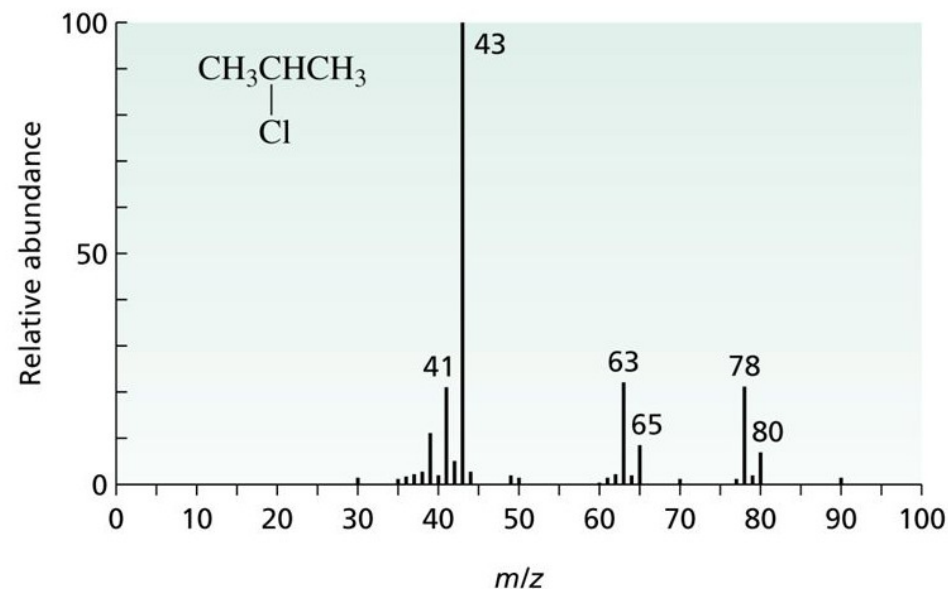
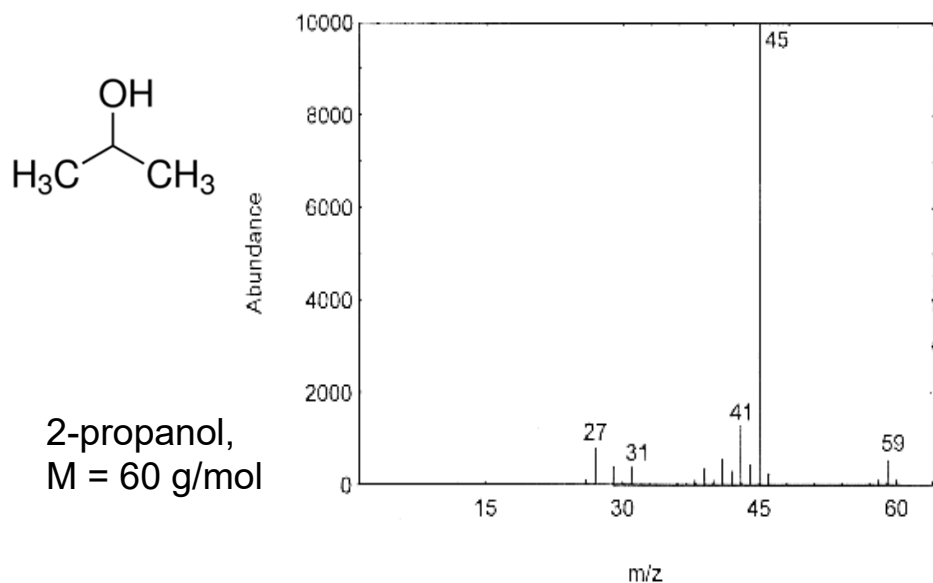
adukty s  $H^+$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $H_2O$ ,  $CH_3OH$ , ...



## C. EI pokud je v iontovém zdroji vysoká koncentrace molekul, dochází k rekombinacím.

# Relativní důležitost píků

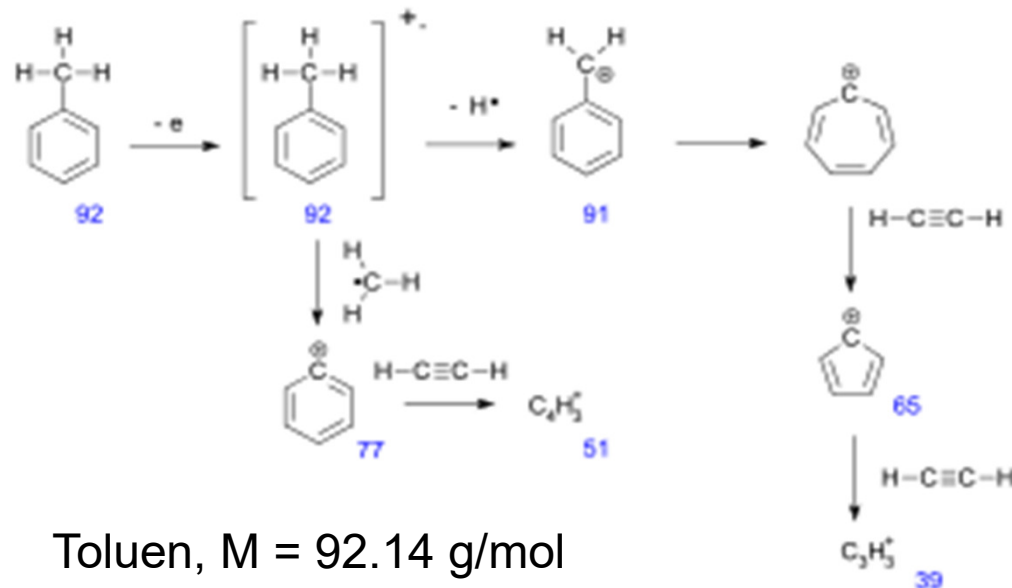
Molekuly obsahující běžné prvky kromě dusíku (C, H, N, O, F, Si, P, S, Cl, Br, I) mají **sudou** hodnotu  $m/z$  molekulového píku. Pro molekuly obsahující dusík platí tzv. „dusíkové pravidlo“.



Nedostatek významných sudých iontů, především pro nízká m/z, indikuje sudou molekulovou hmotnost.

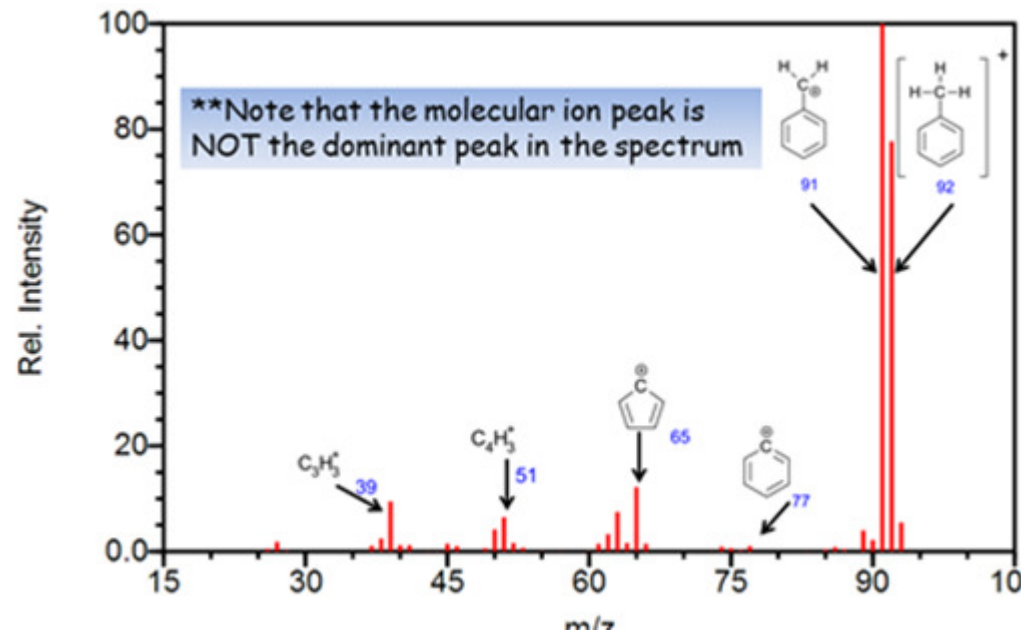
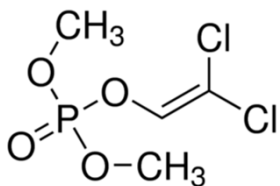
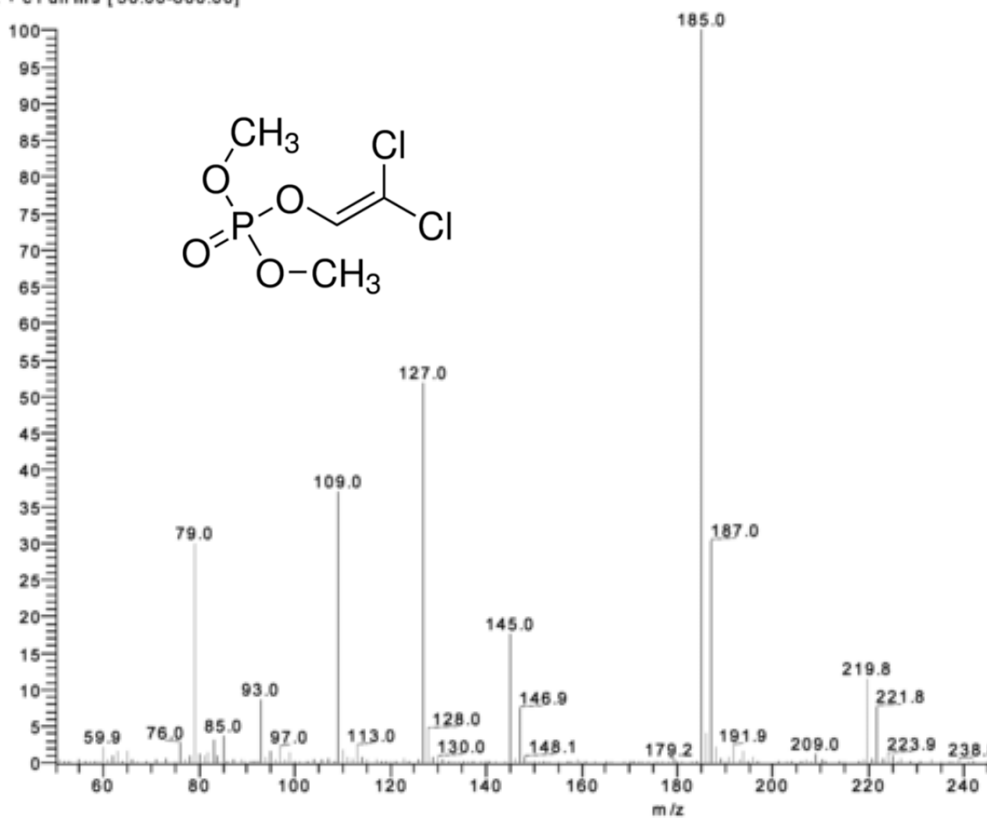
Dichlorvos  
 $C_4H_7Cl_2O_4P$   
 $M = 220.98 \text{ g/mol}$   
 X

Molekulový pík je sudý !!!



Toluen,  $M = 92.14 \text{ g/mol}$

030121\_08 #645 RT: 9.42 AV: 1 NL: 6.83E5  
 T: + c Full ms [50.00-600.00]



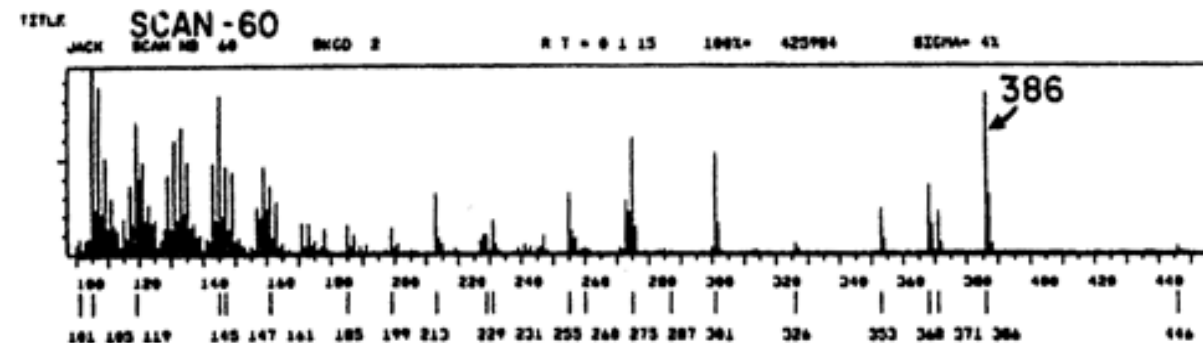
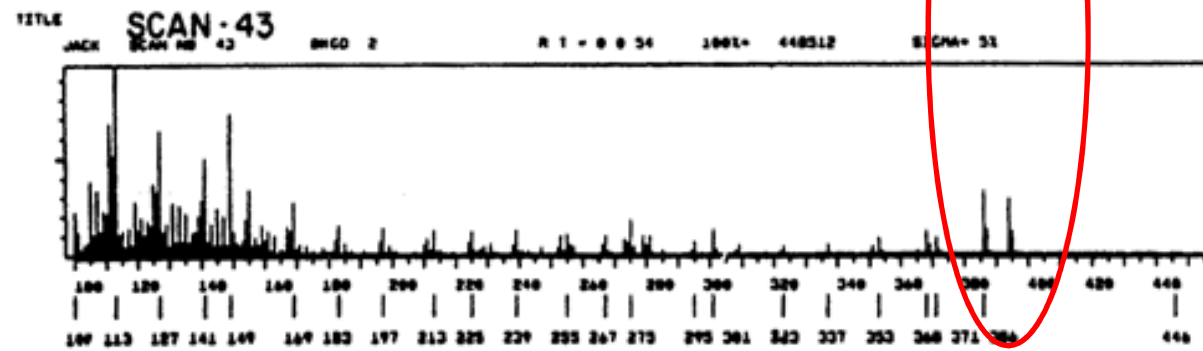
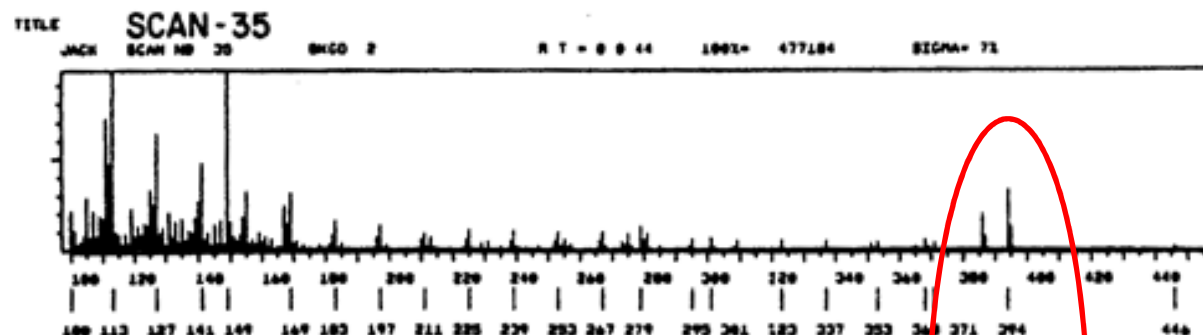
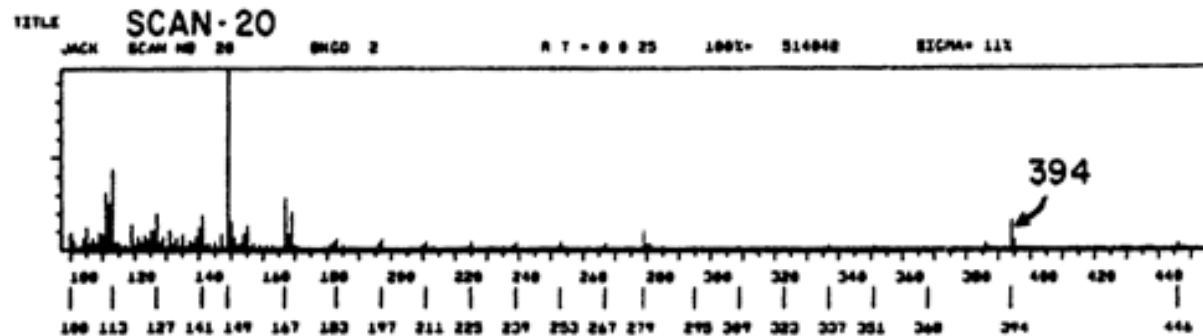
# Molekulový pík

Číselný rozdíl mezi předpokládaným molekulovým píkem a nejbližším píkem fragmentového iontu **nesmí být 5 až 13 m/z**. Pokud není tato podmínka splněna,

1. uvažovaný pík není píkem molekulovým

nebo

2. jde o spektrum směsi různých látek



# Fragmentové píky

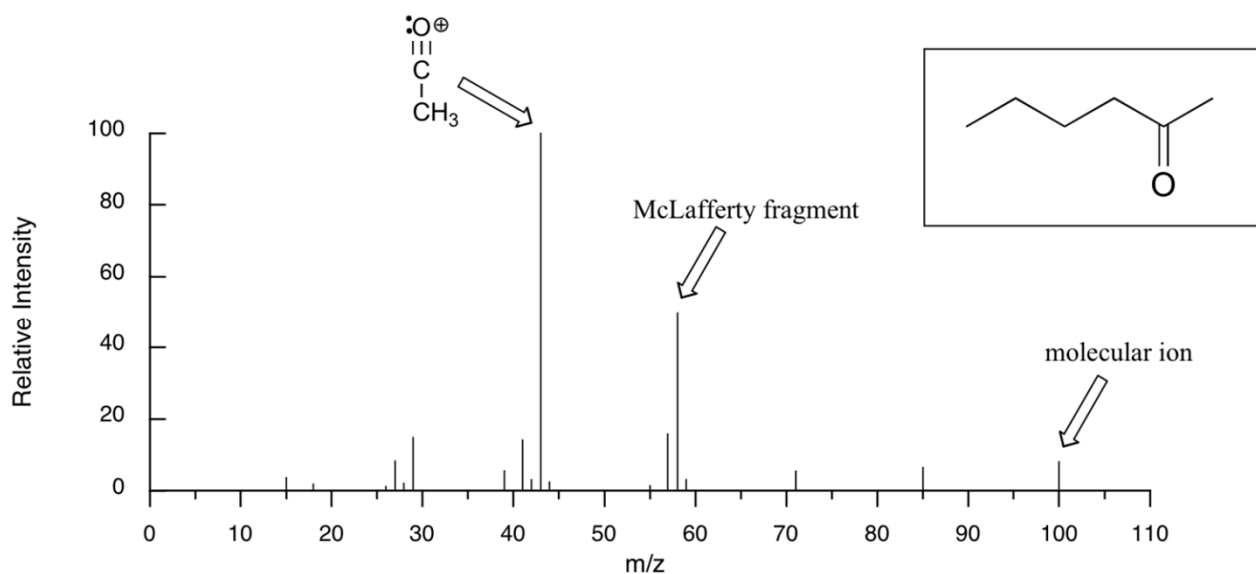
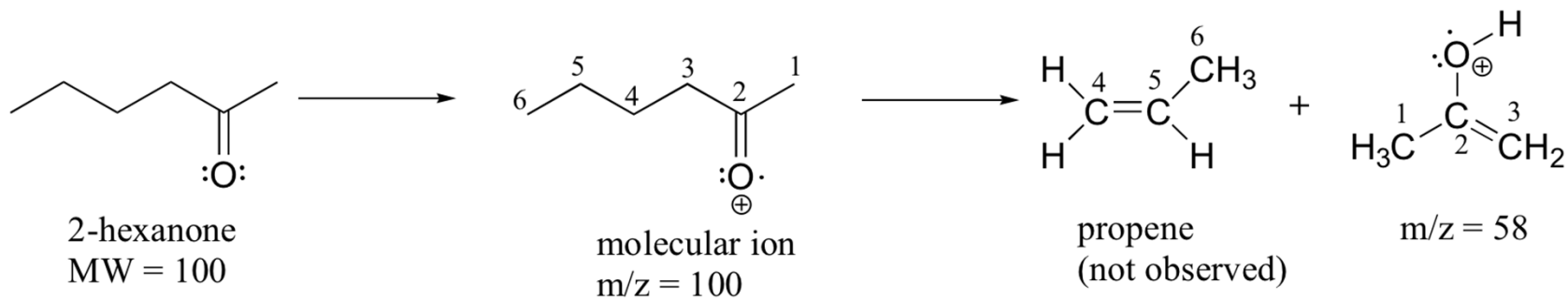
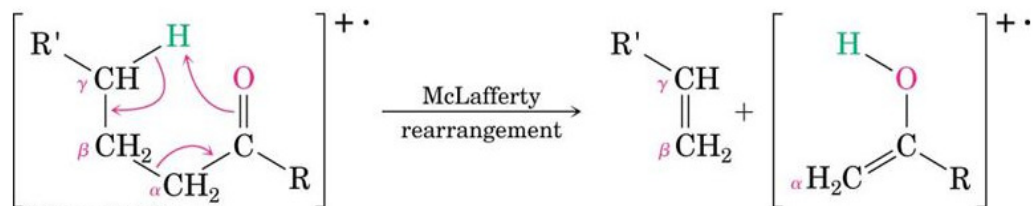


# Hauptfragmentierungsreaktionen (EI-MS)

Typ	Beschreibung	Ausgangs-Ion	Wiederholung des gleichen Reaktionstyps	Beispiel
$\alpha$ -Spaltung	Spaltung der $\alpha$ -Bindung zu einem Heteroatom (N, O, S, seltener Halogen) in offenkettigen Systemen (unter Radikalverlust) oder in Ringen. In letzteren entstehen zunächst isomere $M^{+\bullet}$ , die durch H-Verschiebungen (bevorzugt via 6-gliedrige Ringe) und Radikalabbruchreaktionen zur Bildung von Fragmentionen führen	Molekülon	nein	
McLafferty-Umlagerung	<i>Voraussetzung:</i> Ein zu einer Doppelbindung $\gamma$ -ständiges H-Atom (Das an der Doppelbindung haftende ist das $\alpha$ -Atom)  <i>Reaktionsverlauf:</i> Das H-Atom wird über einen 6-gliedrigen Ring an das andere Atom der Doppelbindung verschoben. Die Atomarten im 6-gliedrigen Übergangszustand sind beliebig	Molekül- und Fragmention	ja	
retro-Diels-Alder-Reaktion	<i>Voraussetzung:</i> 6-gliedriger alicyclischer oder heterocyclischer Ring mit mindestens einer Doppelbindung  <i>Reaktionsverlauf:</i> Es tritt eine Entcyclisierungsreaktion zu En- und Dien-Komponenten ein. Beide Teile können Ladungsträger sein	Molekül- und Fragmention	ja	

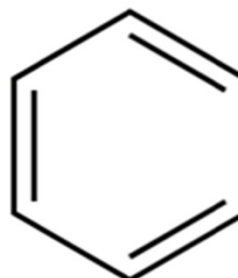
Typ	Beschreibung	Ausgangs-Ion	Wiederholung des gleichen Reaktionstyps	Beispiel
CO-Verlust	<i>Voraussetzung:</i> Cyclische Carbonylverbindungen (Ketone, Chinone), Ketoformen von cyclischen Enolen, Phenolen; Metallcarbonyle; carbonylhaltigen Fragmentationen (aus $\alpha$ -Spaltung)	Molekül- und Fragmention	ja	
Benzyl- oder Allylspaltung	<i>Reaktionsverlauf:</i> Spaltung einer Benzyl- oder Allylbindung (bzw. auch Dreifachbindung)	wie $\alpha$ -Spaltung	nein	
Onium-Reaktion	<i>Reaktionsverlauf:</i> Ein Alkylsubstituent (außer Methyl), der an einem die Ladung tragenden Heteroatom wie N (Immonium), O (Oxonium) etc. haftet, wird unter Transfer eines H-Atoms des Alkylsubstituenten an das Heteroatom abgespalten	Fragmention	ja	

# McLaffertyho přesmyk



# Stabilita aromatických iontů

Benzene



Since benzene has 6 pi electrons:

$$4n + 2 = 6$$

Find n:

$$4n + 2 = 6$$

$$4n = 6 - 2$$

$$4n = 4$$

$$n = 1$$

An aromatic compound follows Huckel's rule if n is equal to zero or a positive whole number.

Benzene is aromatic

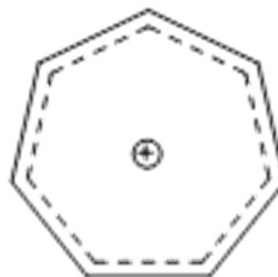
## Hückelovo pravidlo

(E. Hückel, 1896)

Pravidlo, které konstatuje, že planární monocyklický systém mající  $(4n + 2)$  elektronů  $\pi_p$  delokalizovaných na všech uhlíkových atomech kruhu, kde  $n$  je jakékoliv celé číslo (0, 1, 2, 3...), má neobvyklou termodynamickou stabilitu; znamená to, že je aromatický



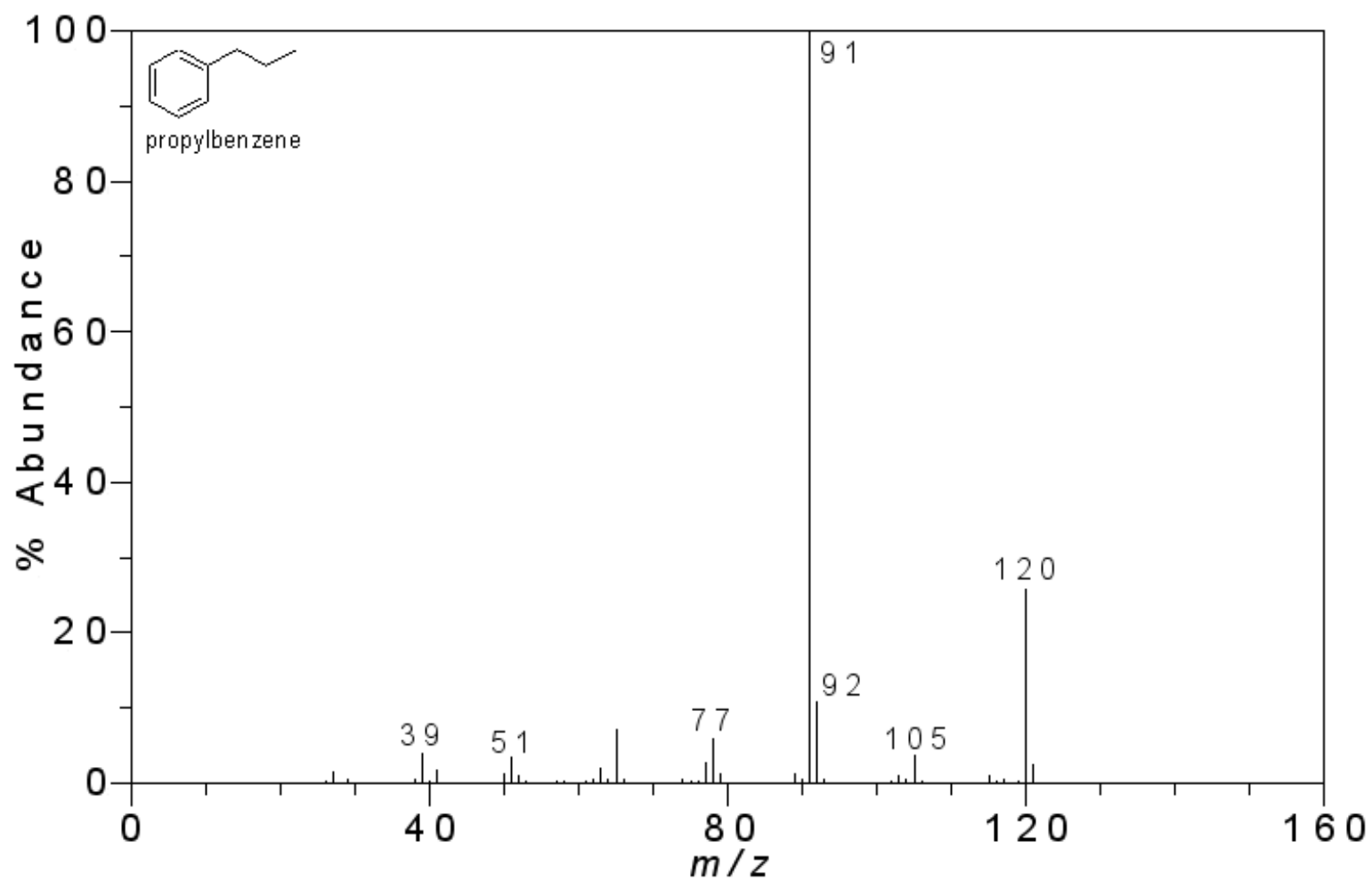
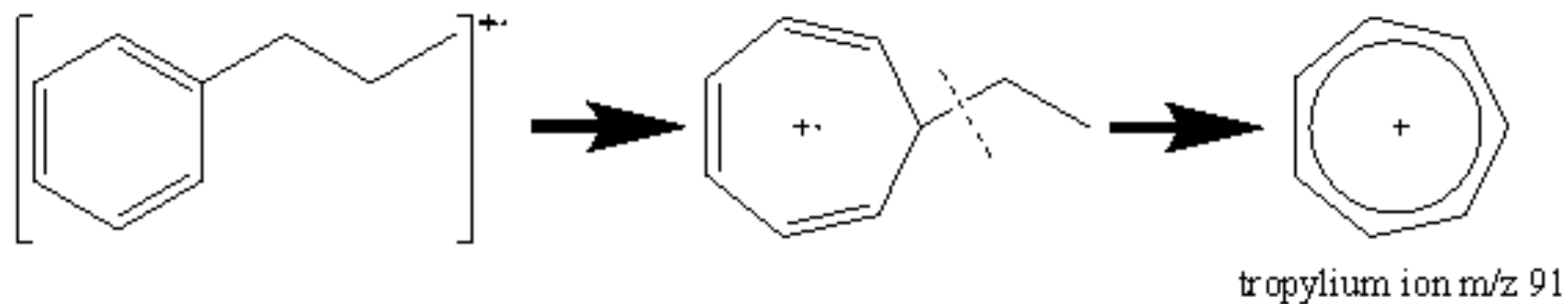
Cyclopropenyl cation



Tropylium cation

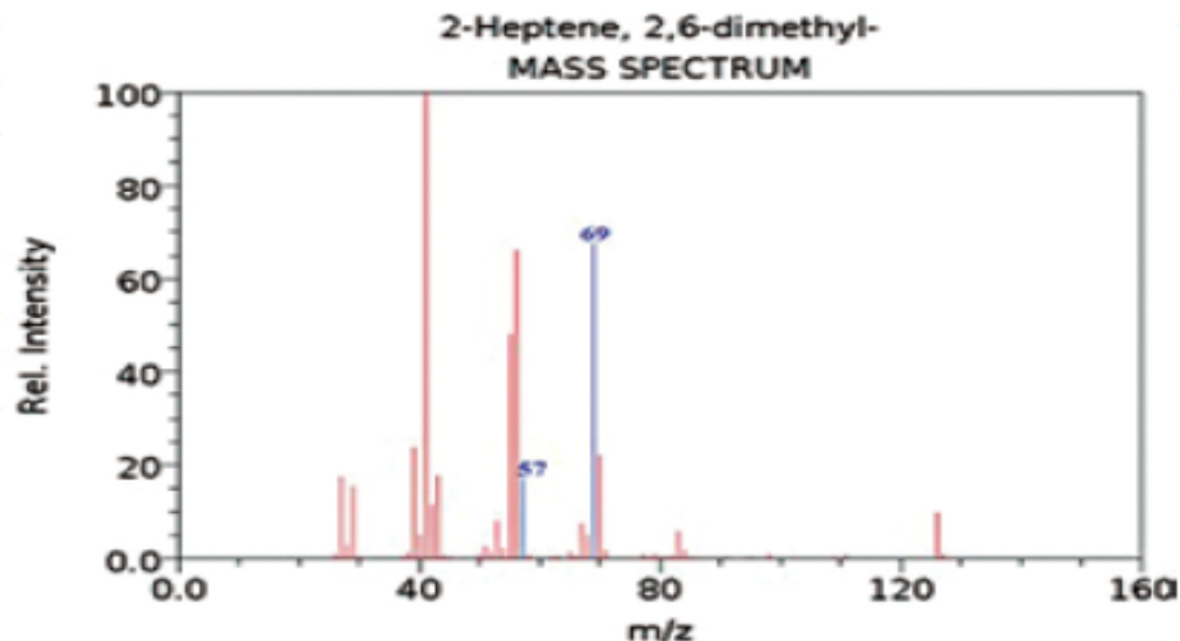


Cyclobutadiene dication



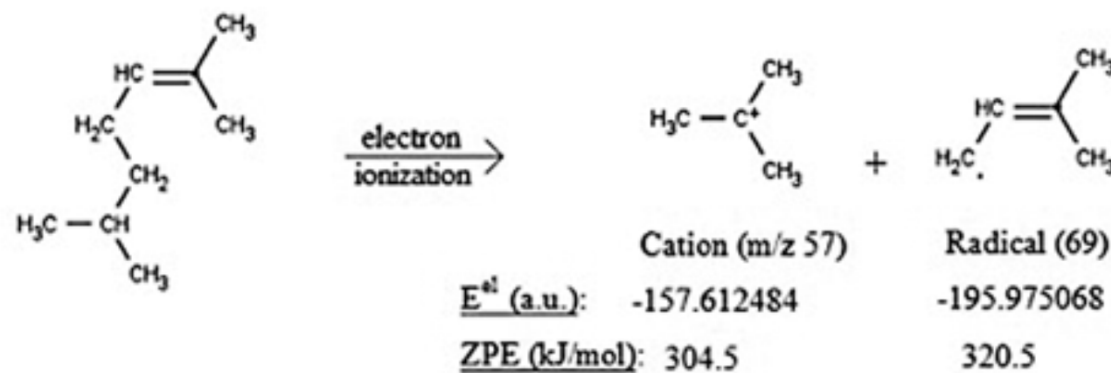
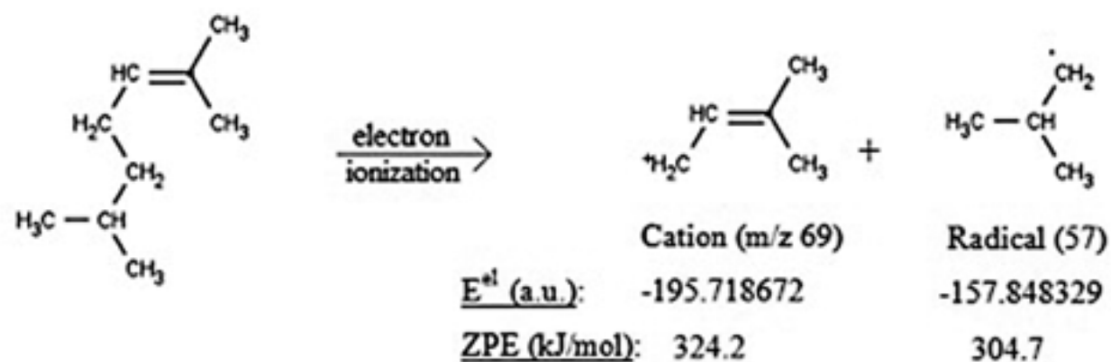
# Stevensonovo pravidlo

Dochází-li k fragmentaci, zůstává kladný náboj na fragmentu s nejnižší ionizační energií.



2,6-Dimethyl-2-hepten

M = 126.24 g/mol

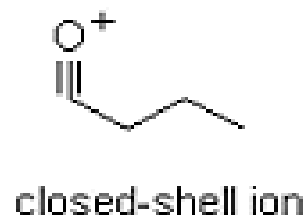
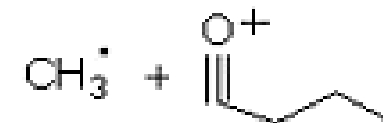
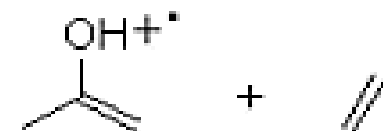
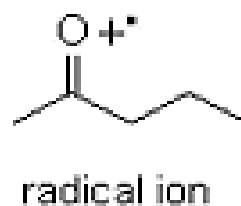


Harison A. G. et al., *Org. Mass Spectrom.* 5, 1971, 1313-1320.

# Pravidlo sudého elektronu (even-electron rule)

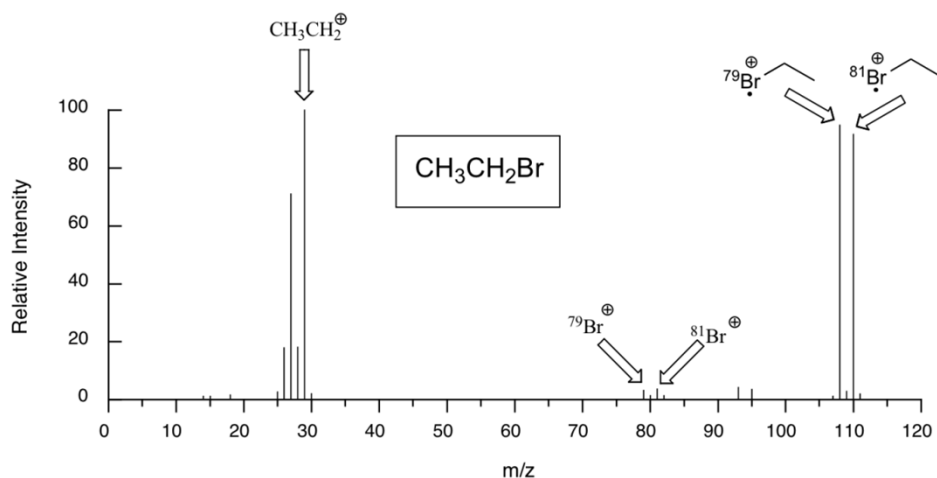
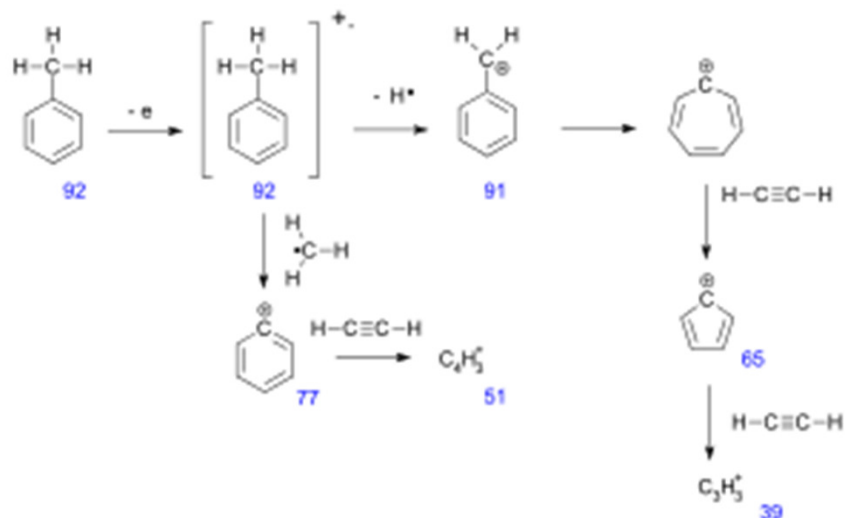
**Ionty se sudým počtem elektronů** (kationty, ale ne ion-radikály, closed-shell ions) se rozpadají na ionty se sudým počtem elektronů ztrátou neutrální molekuly (ne radikálu).

**Ionty s lichým počtem elektronů** (ion-radikály, open-shell ions) se rozpadají ztrátou radikálu za vzniku iontu se sudým počtem elektronů (kationtu) nebo neutrálního fragmentu za vzniku iontu s lichým počtem elektronů (ion-radikálu).



Výjimky v důsledku aromatické stabilizace.

# Fragmentové ionty



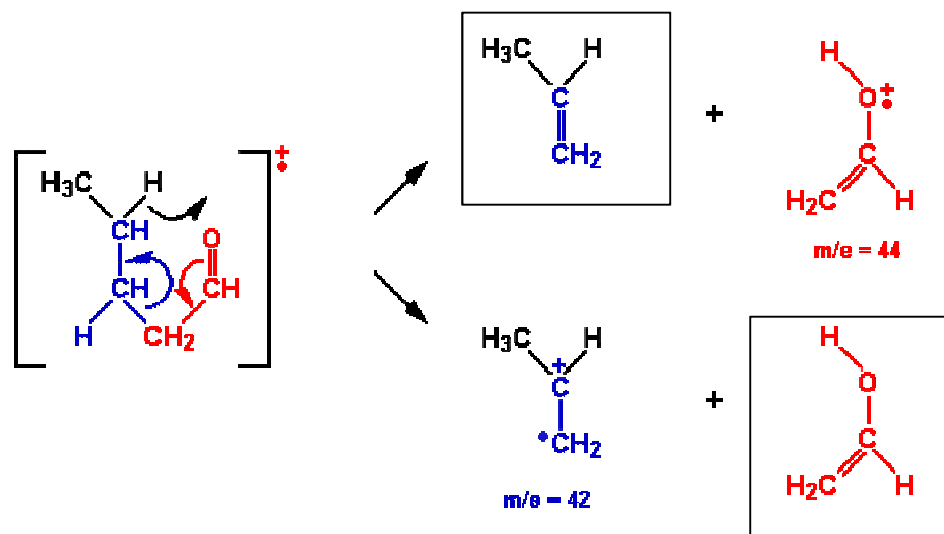
## Prehľad najdôležitejších fragmentových iónov

$m/z$	Ión	Štruktúrny typ	$m/z$	Ión	Štruktúrny typ
30	$\text{NO}^+$	$\text{R}-\text{NO}_2$ , $\text{R}-\text{ONO}_2$ , $\text{R}-\text{ONO}$	58	$[\text{CH}_2=\text{C}(\text{OH})-\text{CH}_3]^+$	$\text{R}-\text{CO}-\text{R}$
30	$\text{H}_2\text{C}=\text{NH}_2^+$	$\text{R}-\text{NH}_2$	58	$[\text{CH}_3\text{CH}=\text{CH}-\text{OH}]^+$	$\text{R}-\text{COH}$
31	$\text{H}_2\text{C}=\text{OH}^+$	$\text{R}-\text{OH}$ , $\text{R}-\text{O}-\text{R}$	58	$[\text{C}_3\text{H}_8\text{N}]^+$	$\text{R}-\text{NH}_2$
33	$\text{HS}^+$	$\text{R}-\text{SH}$ , $\text{R}-\text{S}-\text{R}$	59	$[\text{C}_3\text{H}_7\text{O}]^+$	$\text{R}-\text{OH}$ , $\text{R}-\text{O}-\text{R}$
34	$\text{H}_2\text{S}^+$	$\text{R}-\text{SH}$ , $\text{R}-\text{S}-\text{R}$	59	$[\text{CH}_2=\text{C}(\text{OH})-\text{NH}_2]^+$	$\text{R}-\text{CONH}_2$
35	$\text{H}_3\text{S}^+$	$\text{R}-\text{SH}$ , $\text{R}-\text{S}-\text{R}$	59	$\text{O}=\text{C}-\text{OCH}_3^+$	$\text{R}-\text{COOCH}_3$
35	$^{35}\text{Cl}^+$	$\text{R}-\text{Cl}$ , $\text{Ar}-\text{Cl}$	60	$[\text{CH}_2=\text{C}(\text{OH})_2]^+$	$\text{R}-\text{COOH}$
36	$\text{H}^{35}\text{Cl}^+$	$\text{R}-\text{Cl}$ , $\text{Ar}-\text{Cl}$	60	$\text{CH}_2=\text{O}-\text{NO}^+$	$\text{R}-\text{CH}_2-\text{ONO}$
37	$^{37}\text{Cl}^+$	$\text{R}-\text{Cl}$ , $\text{Ar}-\text{Cl}$	61	$\text{CH}_3-\text{C}(\text{OH})=\text{OH}^+$	$\text{CH}_3-\text{COOR}$
38	$\text{H}^{37}\text{Cl}^+$	$\text{R}-\text{Cl}$ , $\text{Ar}-\text{Cl}$	61	$[\text{C}_2\text{H}_5\text{S}]^+$	$\text{R}-\text{SH}$ , $\text{R}-\text{S}-\text{R}$
39	$\text{C}_3\text{H}_3^+$	<i>a</i>	62	$[\text{C}_2\text{H}_6\text{S}]^+$	$\text{R}-\text{S}-\text{C}_2\text{H}_5$
43	$\text{CH}_3\text{CO}^+$	$\text{R}-\text{COCH}_3$	63	$[\text{C}_3\text{H}_3]^+$	<i>c</i>
44	$\text{CO}_2^+$	<i>b</i>	65	$[\text{C}_3\text{H}_3]^+$	<i>d</i>
44	$\text{CH}_3\text{CH}=\text{NH}_2^+$	$\text{R}-\text{NH}_2$	72	$[\text{C}_4\text{H}_{10}\text{N}]^+$	$\text{R}-\text{NH}_2$
44	$[\text{CH}_2\text{NO}]^+$	$\text{R}-\text{CONH}_2$	72	$\text{H}_2\text{C}=\text{S}^+\text{CN}$	$\text{R}-\text{CH}_2-\text{SCN}$
45	$\text{CH}_3\text{CH}=\text{OH}^+$	$\text{R}-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$	72	$\text{H}_2\text{C}=\text{NCS}^+$	$\text{R}-\text{CH}_2-\text{NCS}$
45	$\text{CH}_3\text{O}=\text{CH}_2^+$	$\text{R}-\text{CH}_2-\text{OCH}_3$	72	$[\text{C}_4\text{H}_8\text{O}]^+$	$\text{R}-\text{CHO}$ , $\text{R}-\text{CO}-\text{R}$ , $\text{R}-\text{OH}$
45	$\text{CHS}^+$	$\text{R}-\text{S}-\text{H}$ , $\text{R}-\text{S}-\text{R}$	73	$\text{C}_3\text{H}_7-\text{CH}=\text{OH}^+$	
46	$\text{CH}_2\text{S}^+$	$\text{R}-\text{SH}$ , $\text{R}-\text{S}-\text{R}$	73	$\text{C}_3\text{H}_7-\text{O}=\text{CH}_2^+$	$\text{R}-\text{O}-\text{R}$
46	$\text{NO}_2^+$	$\text{R}-\text{ONO}_2$ , $\text{R}-\text{NO}_2$	73	$\text{CH}_2=\text{CH}-\text{C}(\text{OH})=\text{OH}^+$	$\text{R}-(\text{CH}_2)_5-\text{COOH}$
47	$\text{CH}_3\text{S}^+$	$\text{R}-\text{S}-\text{CH}_3$	74	$[\text{CH}_2=\text{C}(\text{OH})-\text{OCH}_3]^+$	$\text{R}-\text{COOCH}_3$
47	$\text{H}_2\text{C}=\text{SH}^+$	$\text{R}-\text{SH}$ , $\text{R}-\text{S}-\text{R}$	74	$[\text{CH}_3-\text{CH}=\text{C}(\text{OH})_2]^+$	$\text{R}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{COOH}$
48	$\text{CH}_3-\text{SH}^+$	$\text{R}-\text{S}-\text{CH}_3$	75	$[\text{C}_3\text{H}_7\text{S}]^+$	$\text{R}-\text{SH}$ , $\text{R}-\text{S}-\text{R}$
49	$\text{CH}_3-\text{SH}_2^+$	$\text{R}-\text{S}-\text{CH}_3$	76	$[\text{C}_6\text{H}_4]^+$	$\text{C}_6\text{H}_5\text{X}$
51	$[\text{C}_4\text{H}_3]^+$	<i>a</i>	77	$[\text{C}_6\text{H}_3]^+$	$\text{C}_6\text{H}_5-\text{X}$
86	$\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}^+$	$\text{R}-\text{NH}_2$	91	$[\text{C}_7\text{H}_7]^+$	$\text{C}_6\text{H}_5\text{R}$ , $\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2\text{X}$
	$\text{CH}_2=\text{CH}-$				
87	$-\text{C}(\text{OCH}_3)=\text{OH}^+$	$\text{R}-\text{COOCH}_3$	105	$\text{C}_6\text{H}_5-\text{CO}^+$	$\text{C}_6\text{H}_5-\text{CO}-\text{X}$
87	$\text{C}_3\text{H}_{11}\text{O}^+$	$\text{R}-\text{OH}$ , $\text{R}-\text{O}-\text{R}$			

*a* — aromatické a heterocyklické zlúčeniny, *b* — pozadie, prípadne produkt rozkladu, *c* — aromatické zlúčeniny, *d* — zlúčeniny s benzylovou skupinou, R — alkyl, X — substituent, Ar — aromatický zvyšok



# Ztráty neutrálních molekul a radikálů



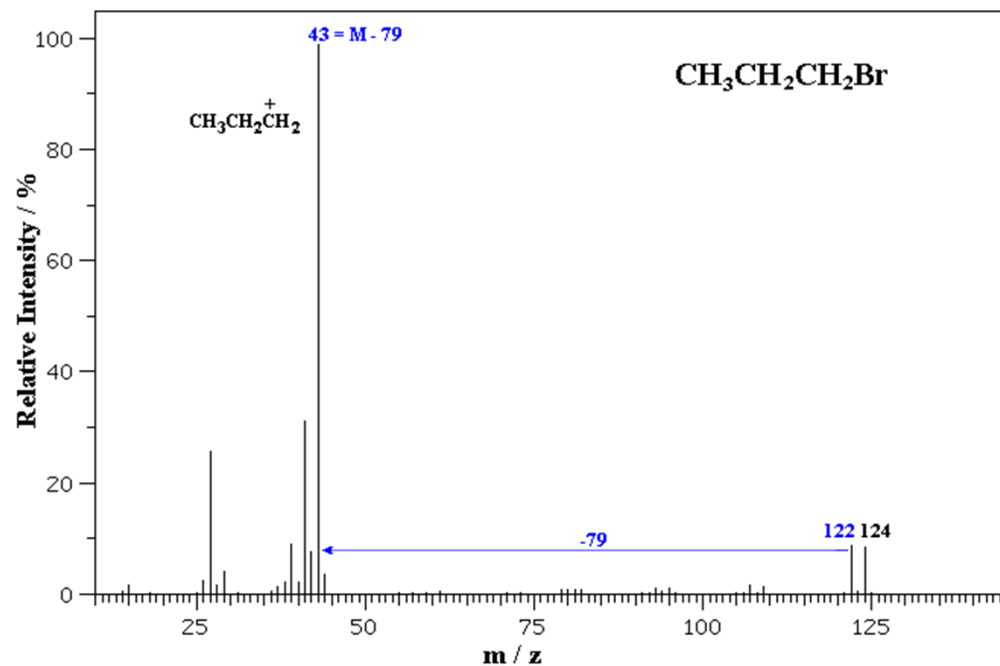
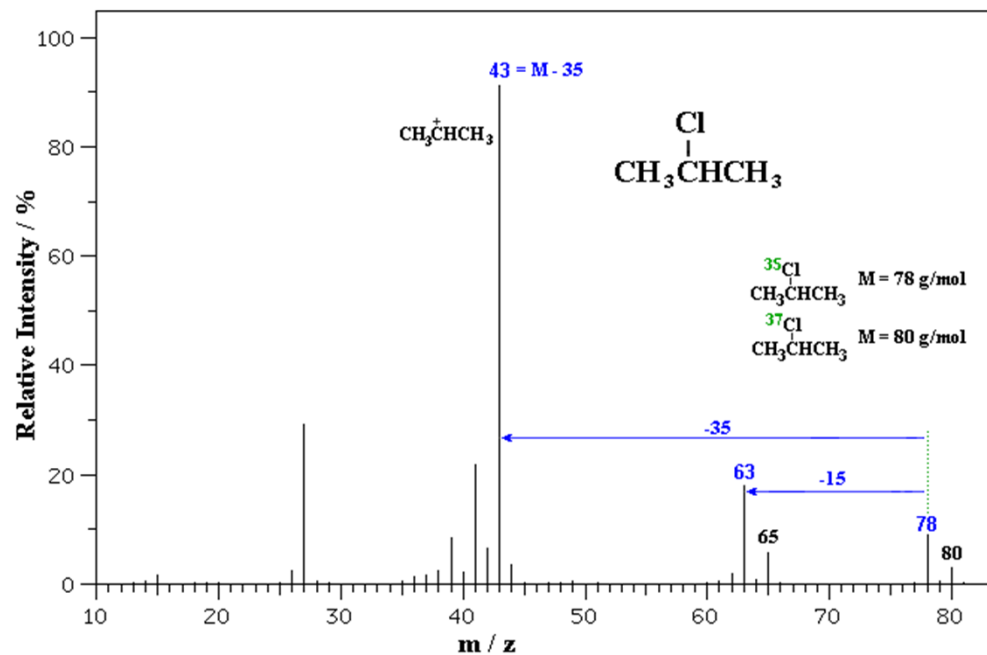
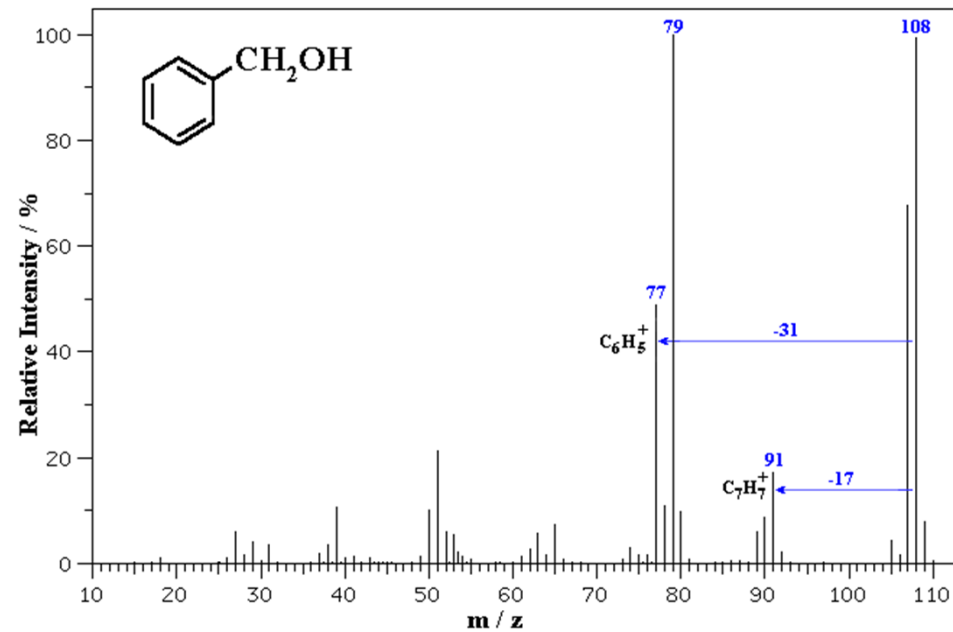
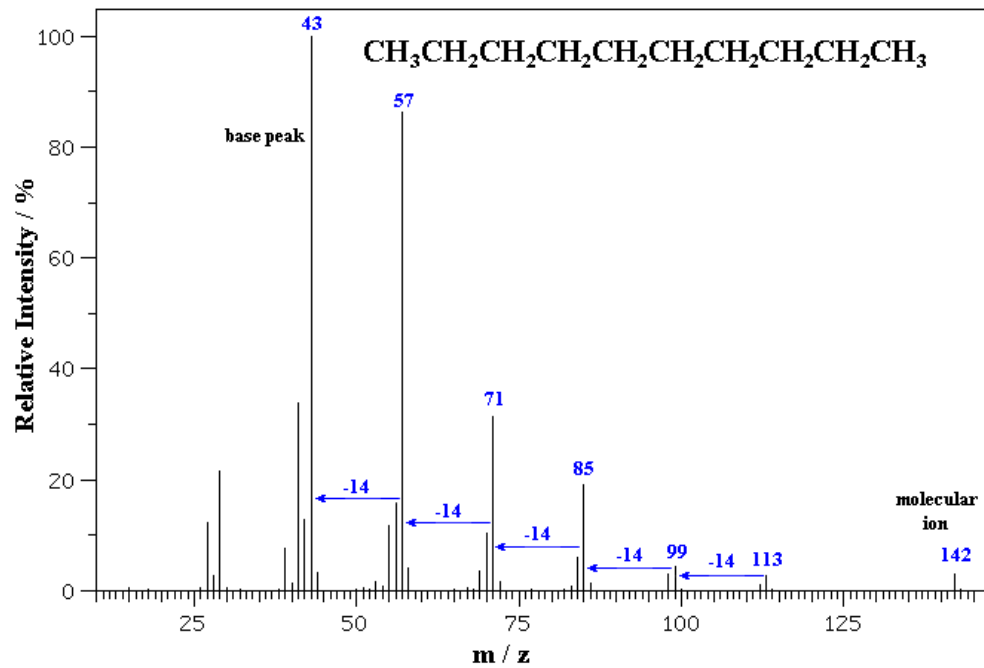
**Table 4.1. Common neutral losses**

M - 1	$\text{H}^\bullet$	M - 32	$\text{CH}_3\text{OH}; \text{S}^\bullet$
M - 15	$^\bullet\text{CH}_3$	M - 33	$\text{HS}^{\bullet\bullet}$
M - 16	O (rare; N → O cmpds.); $^\bullet\text{NH}_2$ (amides)	M - 35	$\text{Cl}^{\bullet\bullet}$
M - 17	$^\bullet\text{OH}; \text{NH}_3$ (rare)	M - 36	$\text{HCl}^\bullet$
M - 18	$\text{H}_2\text{O}$	M - 42	$\text{H}_2\text{C}=\text{C}=\text{O};$ $\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-\text{CH}_3$
M - 19	$\text{F}^\bullet$	M - 43	$\text{CH}_3\text{C}^\bullet\text{O}; ^\bullet\text{C}_3\text{H}_7$
M - 20	$\text{HF}$	M - 44	$\text{CO}_2$
M - 26	$\text{HCCH}; ^\bullet\text{CN}$	M - 45	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}^\bullet; ^\bullet\text{CO}_2\text{H}$
M - 27	$\text{HCN}; \text{H}_2\text{C}=\text{C}^\bullet\text{H}$	M - 46	$\text{NO}_2$ (nitro cmpds.)
M - 28	$\text{CO}; \text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2$	M - 57	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{C}^\bullet\text{O}; ^\bullet\text{C}_4\text{H}_9$
M - 29	$\text{CH}_3\text{C}^\bullet\text{H}_2; \text{HCO}^\bullet$	M - 77	$^\bullet\text{C}_6\text{H}_5$ (phenyl)
M - 30	$\text{NO}$ (nitro cmpds.); $\text{H}_2\text{CO}$	M - 79	$\text{Br}^{\bullet\bullet}$
M - 31	$\text{CH}_3\text{O}^\bullet$	M - 91	$\text{C}_6\text{H}_5\text{C}^\bullet\text{H}_2$ (benzyl)
		M - 127	$\text{I}^\bullet$

<sup>a</sup>Check for loss of or change in isotope peak intensity pattern.

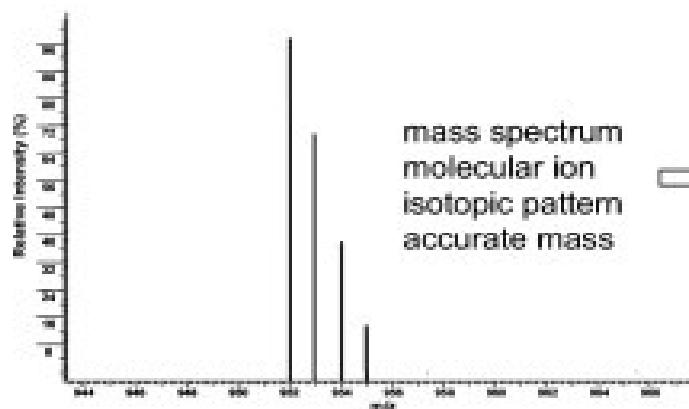
1			H	
2				$\text{H}_2$
3			$\text{H}_3$	
...				
15	$\text{CH}_3$			
16		$\text{H}_2\text{N}$		O
17	$\text{H}_3\text{N}$	$\text{HO}$		
18	$\text{H}_2\text{O}$			$\text{H}_3\text{O}$
19		F		
20	$\text{HF}$			
...				
26	$\text{C}_2\text{H}_2$			CN
27	$\text{CHN}$			$\text{C}_2\text{H}_3$
28	$\text{CO}$			$\text{N}_2$
	$\text{C}_2\text{H}_4$			
29	$\text{C}_2\text{H}_5$	CHO		
30	NO			$\text{CH}_2\text{O}$
31	$\text{CH}_3\text{O}$			
32			$\text{CH}_4\text{O}$	S
33	$\text{H}_2\text{S}$	$\text{CH}_5\text{O}$		HS
...				
35		Cl		
36	$\text{HCl}$			
...				
41	$\text{C}_3\text{H}_5$		$\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$	
42		$\text{C}_3\text{H}_6$	$\text{C}_2\text{H}_2\text{O}$	
43	$\text{C}_2\text{H}_3\text{O}$			
	$\text{C}_3\text{H}_7$			
44	$\text{CO}_2$	$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$		
45	$\text{C}_2\text{H}_5\text{O}$	$\text{CHO}_2$		
	$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$	$\text{C}_2\text{H}_7\text{N}$		
		$\text{NO}_2$		
...				
48				OS
...				
55			$\text{C}_4\text{H}_7$	
56		$\text{C}_4\text{H}_8$	$\text{C}_2\text{O}_2$	
...				
59	$\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$			
60	$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$			
...				
72			$\text{C}_2\text{O}_3$	
73		$\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2$		
...				
77	$\text{C}_6\text{H}_5$			
78	Br			
...				
91	$\text{C}_7\text{H}_7$			
...				
126		I		

← frequency of occurrence



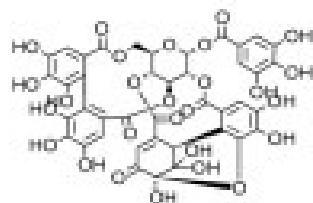
# **Určení sumárního vzorce**

# Určení sumárního vzorce

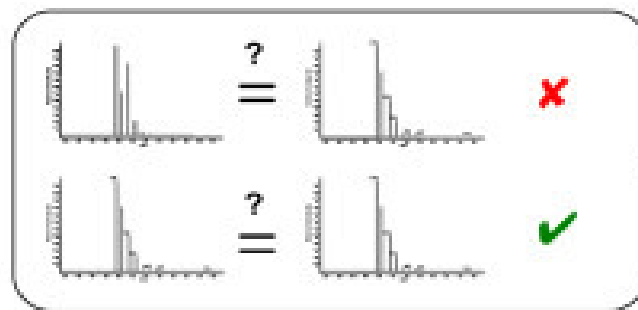


Formula Generator

No.	Formula	Mass
861	C81H22N4O3S2	952.071
862	C81H22N4O3P2S	952.069
863	C81H23N4O3P3S	952.061
864	C81H23N4O3P3	952.069
865	C81H24N4O4P4	952.09
866	C81H25O4P5S3	952.097
867	C81H30O2P2S3	952.089
868	C81H31P3S3	952.08
869	C81H31O2P3S2	952.089
870	C81H32P4S2	952.09
871	C81H119N6O	951.945
872	C81H123O4S	951.914
873	C81H123O8	951.932
874	C81H124O2P5	951.906
875	C81H124O4P	951.924
876	C81H125O2P2	951.915
877	C81H126P3	951.907
878	C81H127N2S2	951.944
879	C81H127N2O2S	951.962



(possible result)



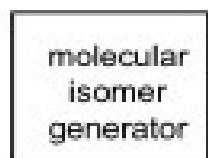
{exhaustive drill down}

Automatic Isotopic Pattern Filter



DB Search

{fast approach but non comprehensive}



molecular isomer generator

{slow approach, needs constraints, comprehensive}

No.	Formula	Mass
1	C41H28O27	952.082
2	C41H28N8O20	952.142
3	C41H28N16O13	952.202
4	C41H28N24O6	952.262

Input variables  $\Rightarrow$

$$\sum_X \sum_i^n n_i X_i = 73$$

Diophantine equation

$\Rightarrow$  solutions

$\text{Si}_n$	$(n = 1-2)$
$\text{O}_n$	$(n = 0-4)$
$\text{C}_n$	$(n = 0-6)$
$(\text{OH})_n$	$(n = 0-4)$
$(\text{CH}_3)_n$	$(n = 0-4)$
$(\text{CH}_2)_n$	$(n = 0-5)$
$(\text{CH})_n$	$(n = 0-5)$

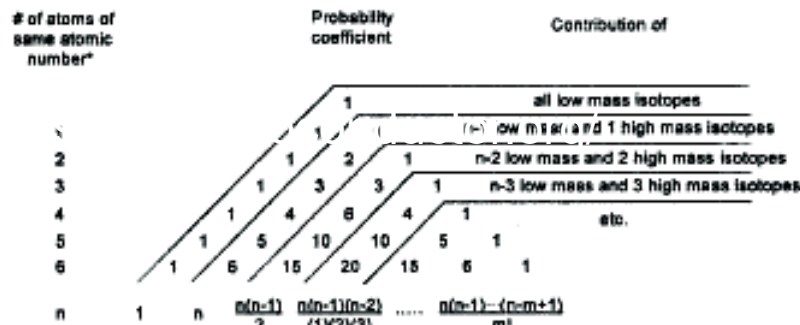
	exact mass
$\text{Si}_2\text{OH}$	72.9566
$\text{SiOC}(\text{OH})$	72.9746
$\text{SiO}_2(\text{CH})$	72.9746
$\text{Si}(\text{OH})(\text{CH}_2)_2$	73.0110
$\text{Si}(\text{OH})(\text{CH})\text{CH}_3$	73.0110
$\text{SiO}(\text{CH}_2)(\text{CH}_3)$	73.0110
$\text{Si}(\text{CH}_3)_3$	<u>73.0473</u>



<http://mzmine.github.io/>



<http://www.mmass.org/>



\*Assuming the element has only two isotopes contributing to isotope peak ratios.

Figure 2.9. Binomial expansion (Pascal's) triangle.



**Molecular Weight Calculator**, by Matthew Monroe  
<https://omics.pnl.gov/software/molecular-weight-calculator>

<https://cran.r-project.org/>  
<https://www.bioconductor.org/>

# Heuristické metody

**Heuristika** = zkusmé řešení problémů, pro něž neznáme algoritmus nebo přesnější metodu. Heuristické řešení je často jen přibližné, založené na poučeném odhadu, intuici, zkušenosti nebo prostě na zdravém rozumu.

NOPS all > 1	N < 10, O < 20, P < 4, S < 3
NOP all > 3	N < 11, O < 22, P < 6
OPS all > 1	O < 14, P < 3, S < 3
PSN all > 1	P < 3, S < 3, N < 4
NOS all > 6	N < 19 O < 14 S < 8

Multiple element count restriction for compounds < 2000 Da, based on the examination of the Beilstein database and the Dictionary of Natural Products

$$\begin{aligned}1 < n_C < N \\0 \leq n_H \leq 2n_C + 2 \\0 \leq n_O \leq 2n_C\end{aligned}$$

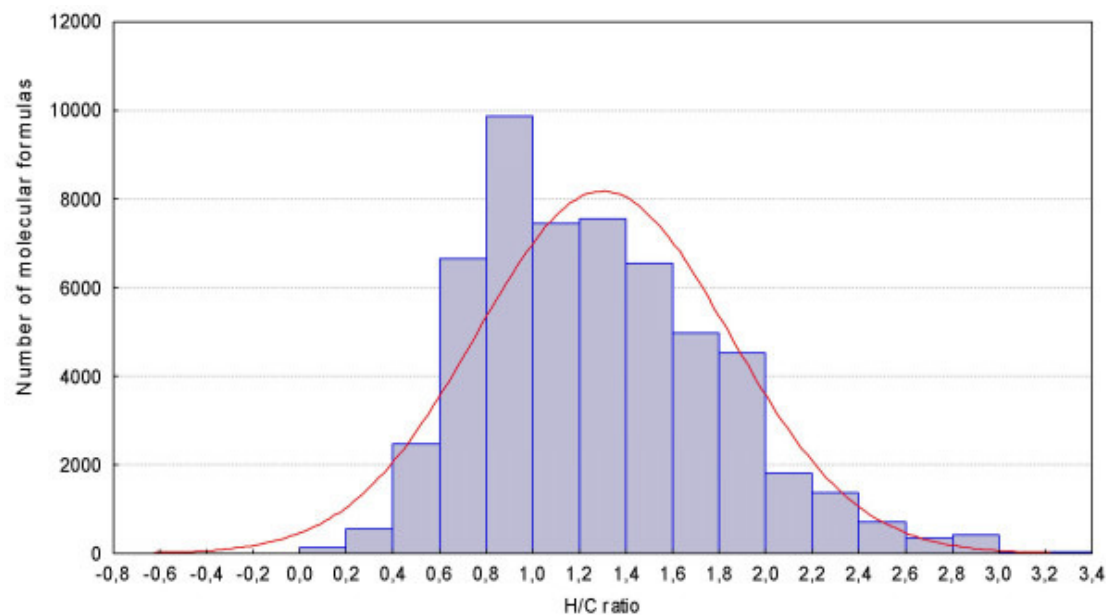
$$\begin{aligned}n_H \leq 2n_C + 2n_N + 2 \\n_O \leq 2n_C + 2n_N + 2\end{aligned}$$

$$n_H + n_N + n_x = \text{sudé číslo}$$

$$\begin{aligned}n_N < N \\n_H < 2n_C + 2n_N + 2 - n_x \\n_O < 2n_C + n_N\end{aligned}$$

# Heuristické metody

Element ratios	Common range (covering 99.7%)	Extended range (covering 99.99%)	Extreme range (beyond 99.99%)
H/C	0.2–3.1	0.1–6	< 0.1 and 6–9
F/C	0–1.5	0–6	> 1.5
Cl/C	0–0.8	0–2	> 0.8
Br/C	0–0.8	0–2	> 0.8
N/C	0–1.3	0–4	> 1.3
O/C	0–1.2	0–3	> 1.2
P/C	0–0.3	0–2	> 0.3
S/C	0–0.8	0–3	> 0.8
Si/C	0–0.5	0–1	> 0.5



Hydrogen/Carbon ratio (H/C) for 42,000 diverse molecules (containing C, H, N, S, O, P, F, Cl, Br, I, Si) taken from the Wiley mass spectral library.

## Heuristické metody

Restrictions for number of elements during formula generation for small molecules based on examination of the DNP and Wiley mass spectral databases. For each element, the higher count was taken for denominating the element restriction rule #1

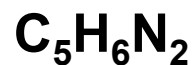
Mass Range [Da]	Library	C max	H max	N max	O max	P max
< 500	DNP	29	72	10	18	4
	Wiley	39	72	20	20	9
< 1000	DNP	66	126	25	27	6
	Wiley	78	126	20	27	9
< 2000	DNP	115	236	32	63	6
	Wiley	156	180	20	40	9
< 3000	DNP	162	208	48	78	6

Mass Range [Da]	Library	S max	F max	Cl max	Br max	Si max
< 500	DNP	7	15	8	5	
	Wiley	10	16	10	4	8
< 1000	DNP	8	16	11	8	
	Wiley	14	34	12	8	14
< 2000	DNP	8	16	11	8	
	Wiley	14	48	12	10	15
< 3000	DNP	9	16	11	8	

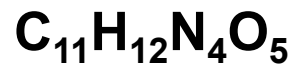


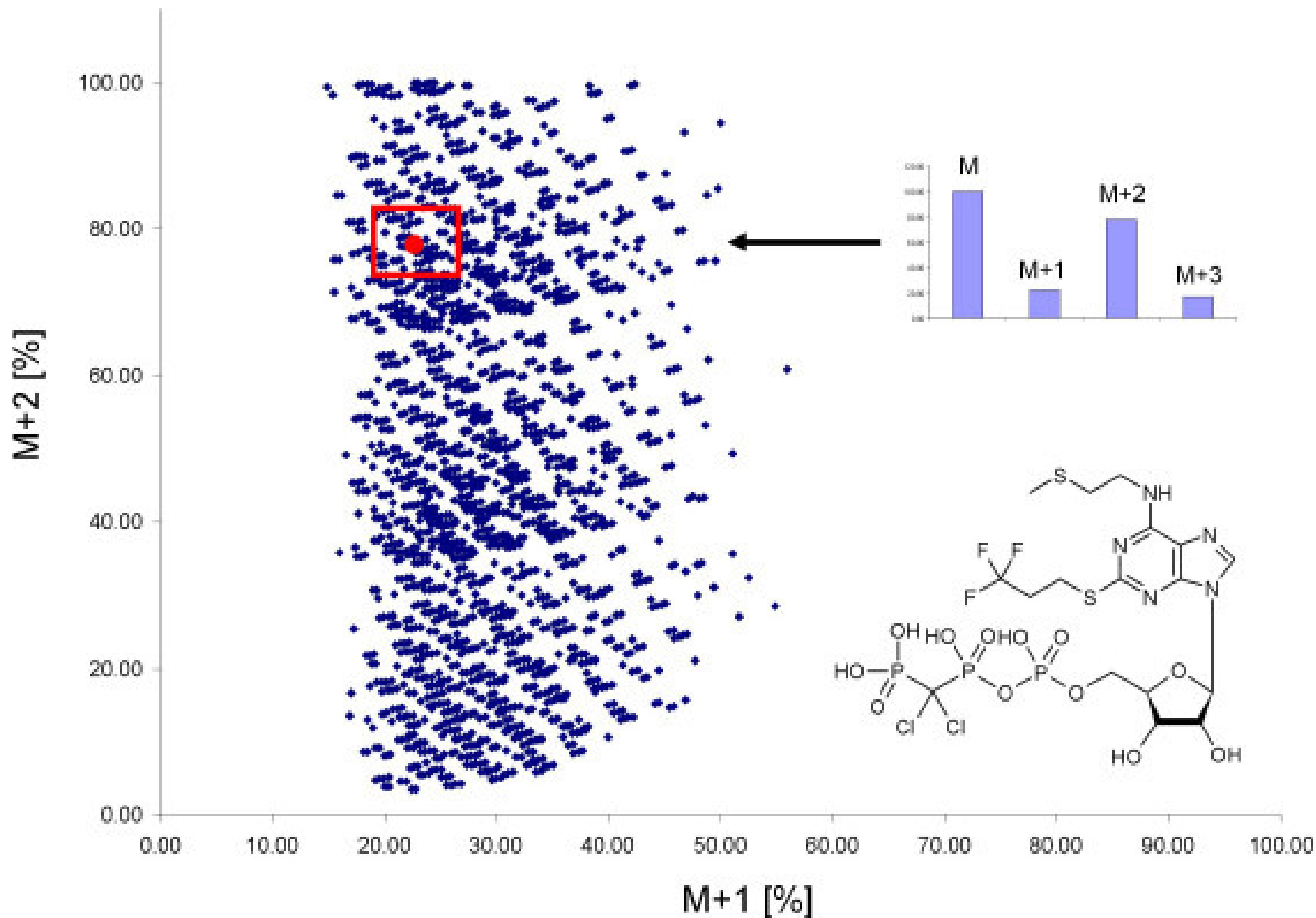
## A+1 píky: srovnání s modelem

Nízké rozlišení	$M$	$100 (M+1)/M$
<b>experiment</b>	<b>94</b>	<b>13</b>
$C_3H_2N_4$	94	43.8
$C_5H_6N_2$	94	13.1



Vysoké rozlišení	$M$	$100 (M+1)/M$
<b>experiment</b>	<b><math>280.082 \pm 0.003</math></b>	<b>13.15</b>
$C_{10}H_{16}O_9$	280.07944	11.77
$C_{11}H_{12}N_4O_5$	280.08077	14.14
$C_{16}H_{12}N_2O_3$	280.08480	18.94





**Cangrelor**,  $M = 774.94831$  Da, chyba měření  $\pm 5\%$  (red box). Molar mass: 776,36 g/mol

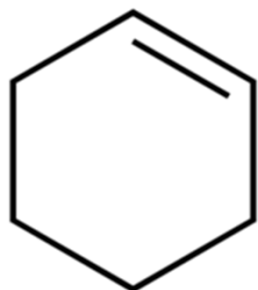
## Pravidlo 13-ti



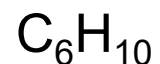
$$u = (n - r + 2)/2$$

u = stupeň nenasycenosti  
(cykly + dvojn  vazby)

$$M/13 = n + r/13$$



cyklohexen



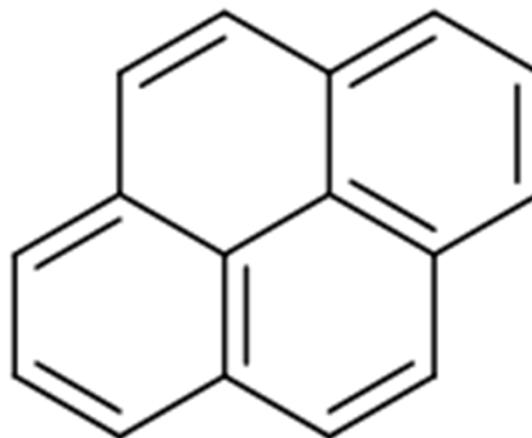
M = 82.143 g/mol

$$82/13 = 6.3077 = 6 + 0.3077$$

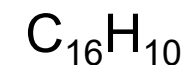
$$n = 6$$

$$r = 0.3077 \times 13 = 4$$

$$u = (6 - 4 + 2)/2 = \underline{2}$$



pyren



M = 202.25 g/mol

$$202/13 = 15.5385 = 15 + 0.5385$$

$$n = 15$$

$$r = 0.5385 \times 13 = 7$$

$$u = (15 - 7 + 2)/2 = \underline{5}$$

$$202/13 = 15.5385 = 16 - 0.4615$$

$$n = 16$$

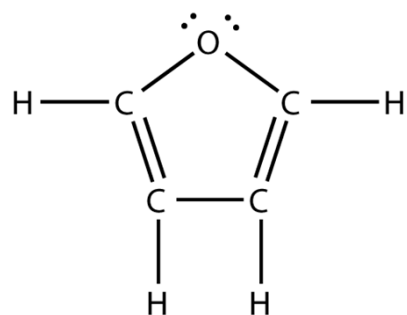
$$r = -0.4615 \times 13 = -6$$

$$u = (16 + 6 + 2)/2 = \underline{12}$$

# Pravidlo 13-ti

$$M/13 = n + r/13$$

$$u = (n - r + 2)/2$$



furan  
 $C_4H_4O$   
 $M = 68.07 \text{ g/mol}$

$$68/13 = 5.231 = 5 + 0.231$$

$$n = 5$$

$$r = 0.231 \cdot 13 = 3$$

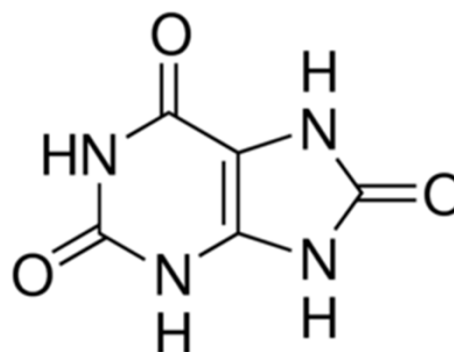


$$ue = (5 - 3 + 2)/2 = 2$$

$$u = ue + du = ue + 1 = \underline{3}$$

U derivátů uhlovodíků se heteroatomy nahrazují uhlovodíkovými ekvivalenty:

O	$CH_4$	$du = 1$
N	$CH_2$	$du = \frac{1}{2}$
$N_2$	$C_2H_4$	$du = 1$
Cl	$C_2H_{11}$	$du = 3$

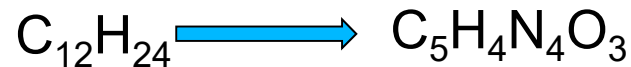


Kyselina močová  
 $C_5H_4N_4O_3$   
 $M = 168.11 \text{ g/mol}$

$$168/13 = 12.923 = 12 + 0.923$$

$$n = 12$$

$$r = 0.923 \cdot 13 = 12$$

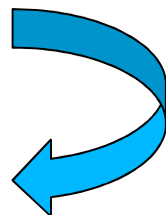


$$ue = (12 - 12 + 2)/2 = 1$$

$$u = ue + du = ue + (3 \cdot 1 + 4 \cdot 0.5) = \underline{6}$$

# Cykly a násobné vazby

1. Výpočet z Eulerova vzorce
2. Výpočet z valencí



$$\rho = 0.5 V - N + 1$$

$2\rho$  = množství atomů H potřebných k nasycení molekuly,  $N$  = počet atomů,  $V$  = suma valencí atomů

$$\text{DBE} = C - H/2 + N/2 + 1$$

$$\text{DBE} = C + \text{Si} - 1/2(H + F + \text{Cl} + \text{Br} + \text{I}) + 1/2(N + \text{P}) + 1$$

(pouze pro N, S, P v minimálním oxidačním stavu N (-III), S(-II), P(-III))

$$\text{DBE} = 0.5(\sum n_i \cdot (v_i - 2)) + 1$$

$$\text{DBE} = -a/2 + c/2 + d + 3e/2 + 2f + 1$$

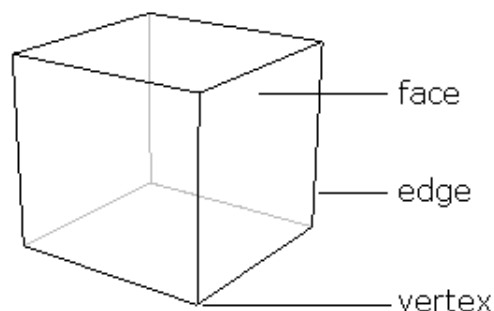
(kde a, c, d, e, f = počet 1, 3, 4, 5 a 6 valentních atomů)

*Badertscher M. et al. J. Chem. Inf. Comput. Sci. 41, 2001, 889-893*

*Lobodin V. et al. Anal. Chem. 84, 2012, 3410-3416*

*Pellegrin V. : J. Chem. Educ. 60, 1983, 626-633*

# Eulerův vzorec

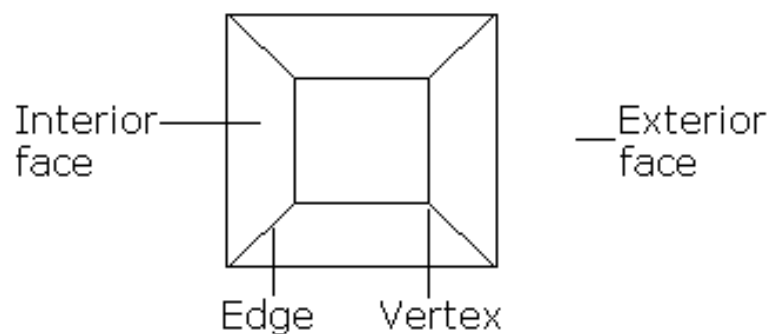


$$V - E + F = 2$$

V = počet vrcholů (vertices)

E = počet hran (edges)

F = počet ploch (faces)



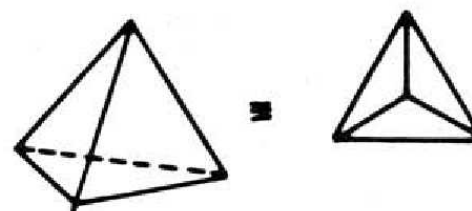
$$v - e + f = 1$$

v = počet vrcholů (vertices)

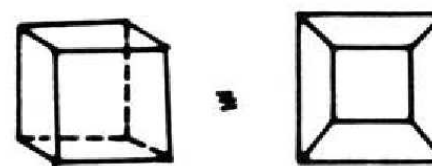
e = počet hran (edges)

f = počet ploch (faces)

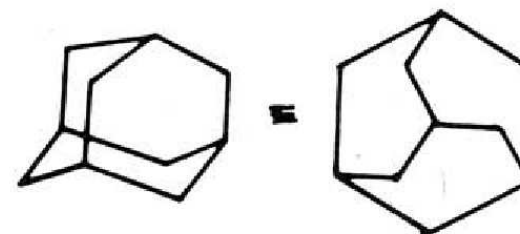
Transformace do planárního grafu  
(Schlegelův diagram)



Tetrahedrane (a = 4, b = 6, c = 3) is  
tricyclo[1.1.0.0<sup>2,4</sup>]butane.



Cubane (a = 8, b = 12, c = 5) is  
pentacyclo[4.2.0.0<sup>2,5</sup>.0<sup>3,8</sup>.0<sup>4,7</sup>]octane.



Adamantane (a = 10, b = 12, c = 3) is  
tricyclo[3.3.1.1<sup>3,7</sup>]decane.

Lederberg J.: *PNAS* 53, 1965, 134-139

Eckroth D.R.: *J. Org. Chem.* 32, 1967, 3362-3365

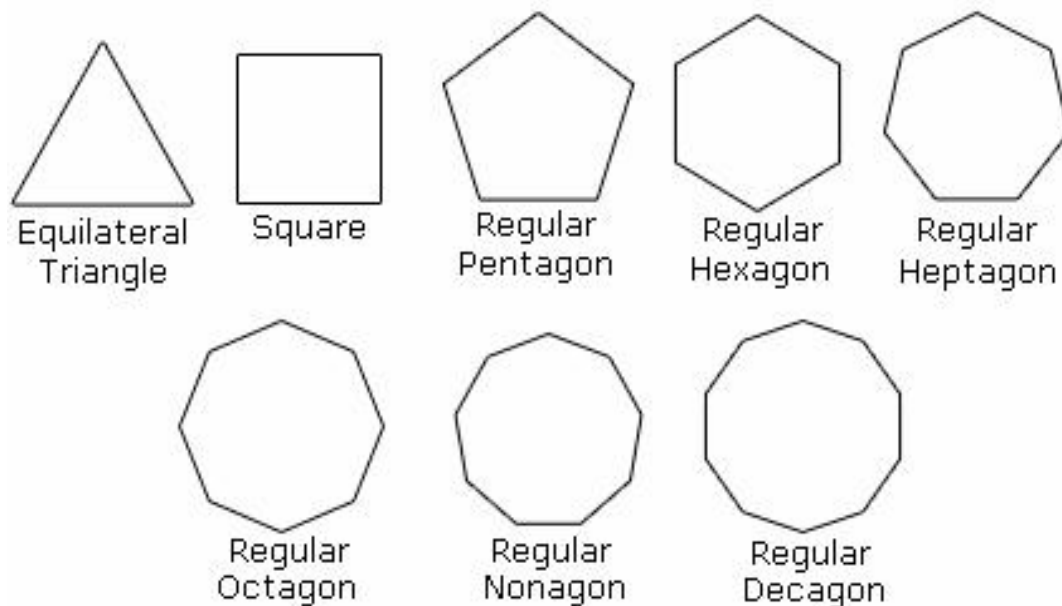
# Cyklické a nenasycené uhlovodíky

$$v - e + f = 1$$

v = počet vrcholů (vertices)

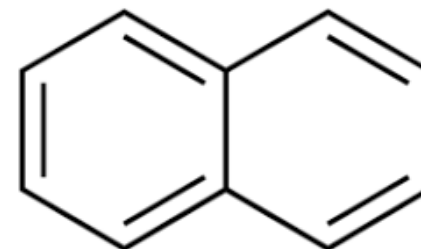
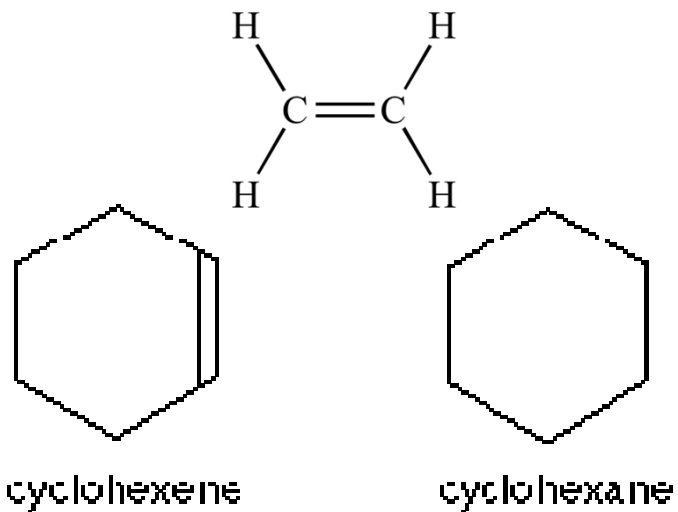
e = počet hran (edges)

f = počet ploch (faces)



$$f = e - v + 1$$

f = tzv. cyklomatické číslo (počet cyklů a násobných vazeb v molekule; jedna trojná vazba je ekvivalentní dvěma dvojným vazbám)



naftalen

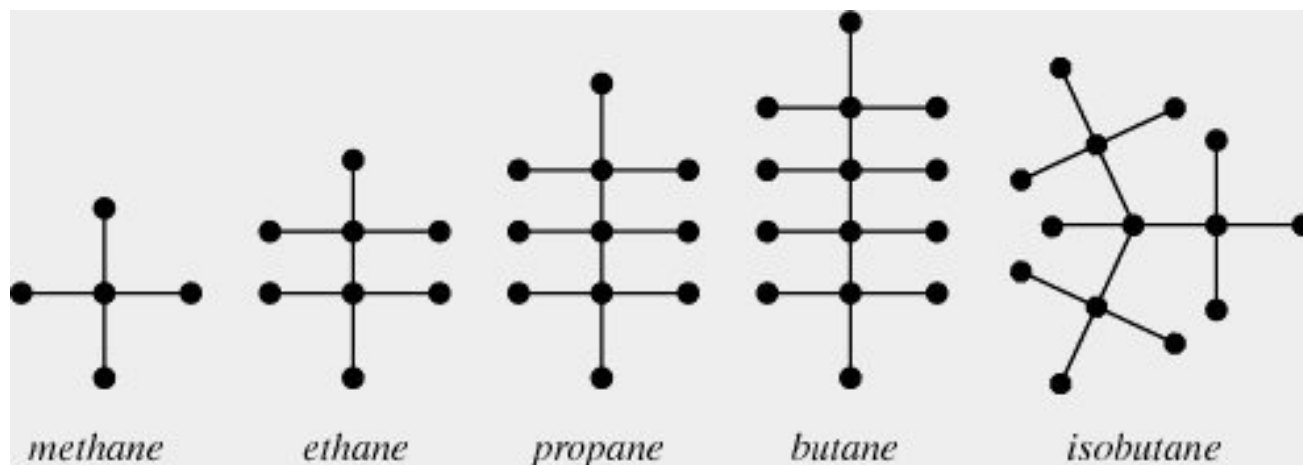
$$\begin{aligned} v &= 10 \\ e &= 16 \\ f &= 7 \end{aligned}$$

# Alifatické alkany

$$v - e + 0 = 1$$

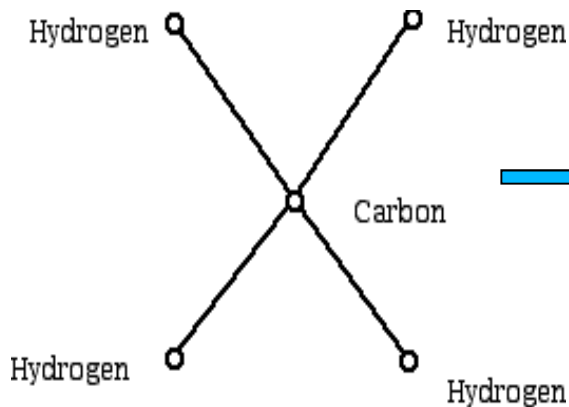
$$v = e - 1$$

$v$  = počet vrcholů (vertices)  
 $e$  = počet hran (edges)  
 $f$  = počet ploch (faces) = 0



*Stupeň vrcholu grafu* (valence vrcholu) = počet hran zasahujících do daného vrcholu

$$\text{deg}(v_1) + \text{deg}(v_2) + \dots + \text{deg}(v_p) = 2(v - 1)$$



$$\text{deg}(C) = 4$$

$$\text{deg}(H) = 1$$

$$1 + 1 + 1 + 1 + 4 = 2(4 + 1 - 1)$$

$$h + 4c = 2(c + h - 1)$$

$$\mathbf{h = 2c + 2}$$



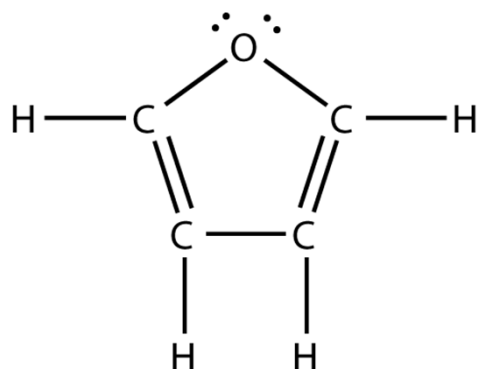
# „Lewisovo“ oktetové pravidlo (pravidlo $6N + 2$ )

počet ne-vodíkových atomů =  $N$

počet elektronů v sigma vazbách =  $2(N - 1)$

počet valenčních elektronů =  $V = \sum \text{číslo skupiny atomu} - \text{náboj}$

počet valenčních elektronů v jednoduchých vazbách necyklické Lewisovy oktetové struktury =  $A = 8N - 2(N - 1) = 6N + 2$



furan  
 $C_4H_4O$   
 $M = 68.07 \text{ g/mol}$

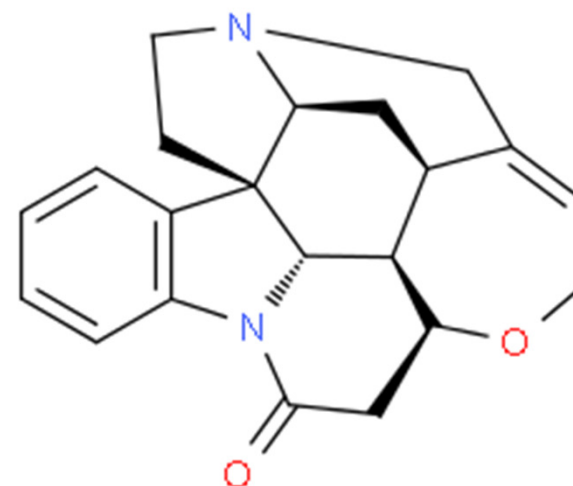
$$A = 6 \times 5 + 2 = 32$$

$$V = 4 \times 4 + 6 \times 1 + 1 \times 4 - 0 = 26$$

$$EB = (A - V)/2 = (32 - 26)/2 = 3$$

(počet cyklů a dvojných vazeb)

strychnin  
 $C_{21}H_{22}N_2O_2$   
 $M = 334.41 \text{ g/mol}$



$$A = 6 \times 25 + 2 = 152$$

$$V = 4 \times 21 + 6 \times 2 + 5 \times 2 + 1 \times 22 - 0 = 128$$

$$EB = (A - V)/2 = (152 - 128)/2 = 12$$

(počet cyklů a dvojných vazeb)

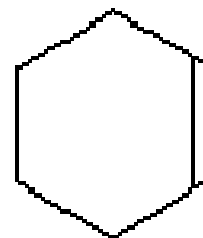
# Cyklické a nenasycené uhlovodíky

$$r = t/2 + q + 1$$

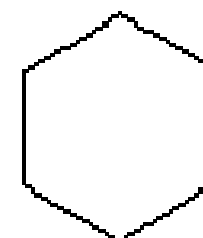
t = počet terciárních atomů kruhu (CH, N, O<sup>+</sup>)

e = počet kvartérních atomů (C, N<sup>+</sup>)

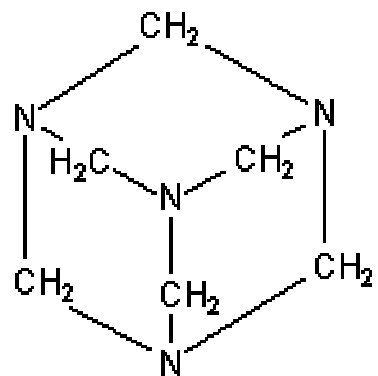
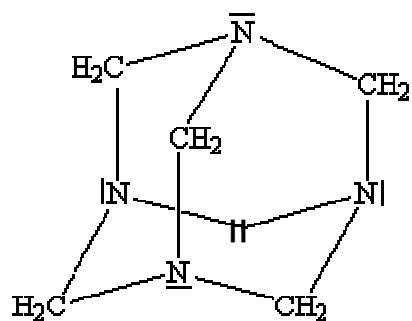
r = počet cyklů



cyclohexene



cyclohexane



Hexamethylenetetramin

v = 10

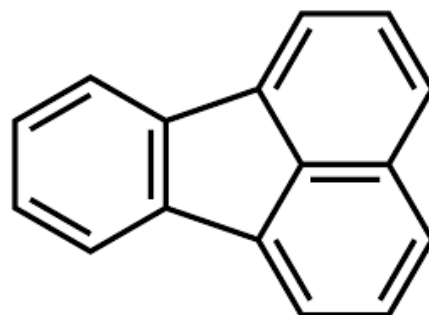
e = 12

f = 3

t = 4

q = 0

r = 3



fluoranthen

v = 16

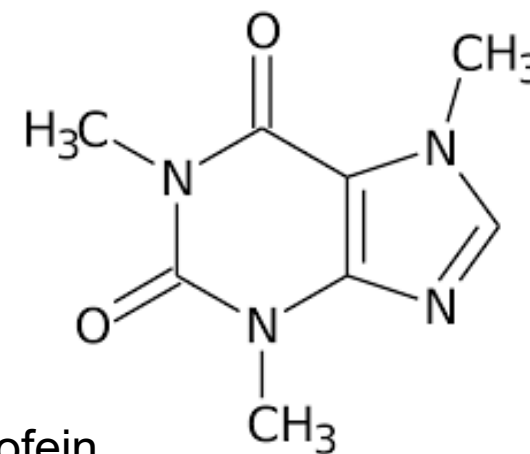
e = 27

f = 12

t = 10

q = 6

r = 12



kofein

v = 11

e = 16

f = 6

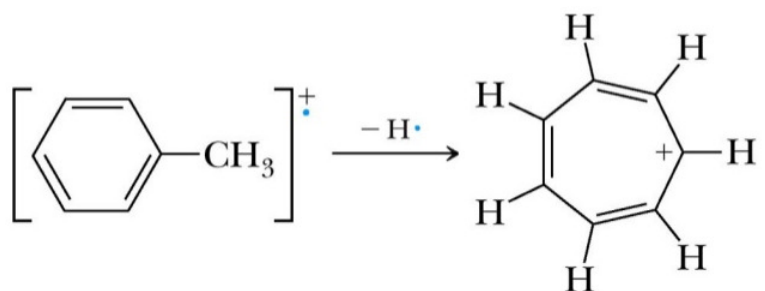
t = 2

q = 4

r = 6

# Fragmentové píky

Odštěpením H radikálu se DBE fragmentového iontu zvýší o 0.5, adicí protonu se DBE o 0.5 sníží.

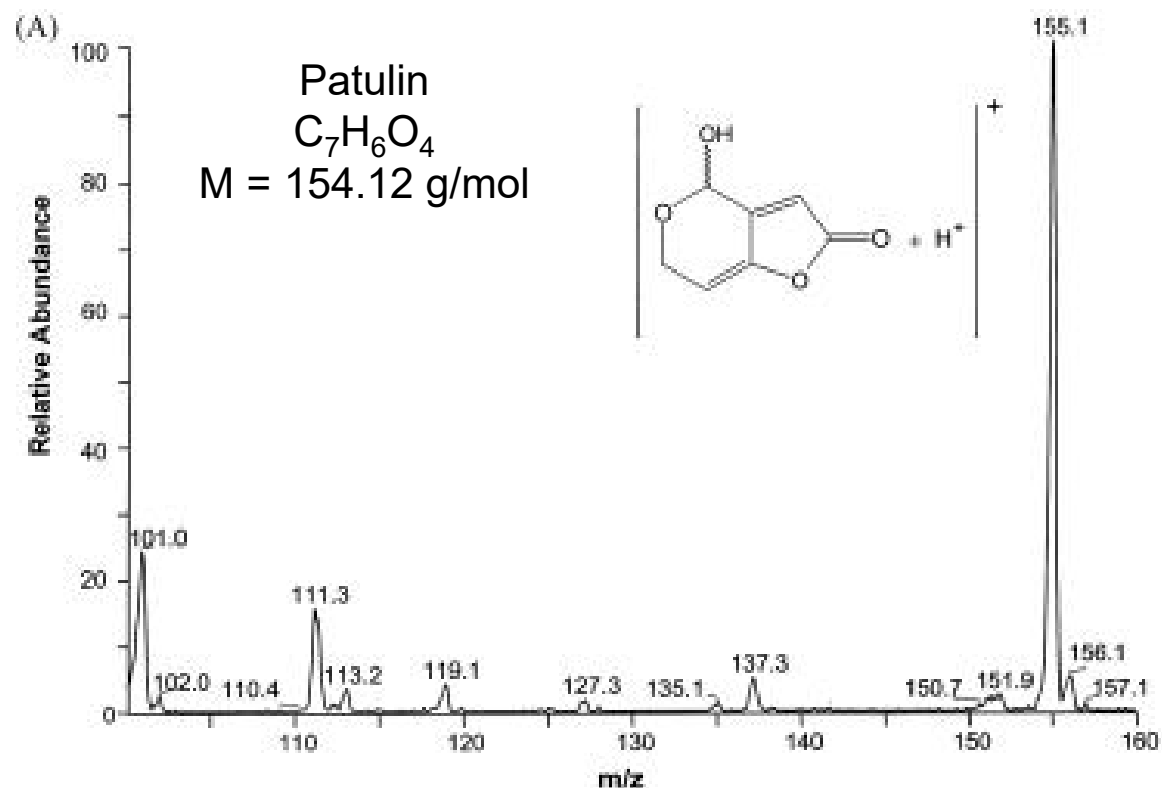


Toluene radical cation

$$\text{DBE} = 4$$

Tropylium cation  
( $m/z$  91)

$$\text{DBE} = 4.5$$



$$\text{DBE (M)} = 5$$

$$\text{DBE (M+H}^+) = 4.5$$

## Identifikace nepravděpodobných vzorců



$$\text{DBE} = 11 - 6.5 + 1 = 5.5$$

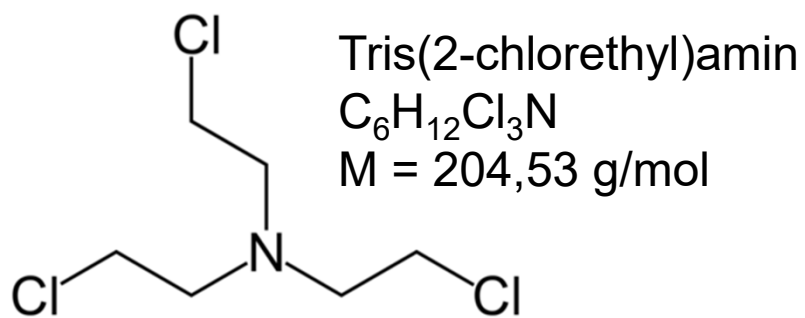
Vzorec molekuly obsahuje lichý počet atomů s valencí 1 (H a Cl), ale neobsahuje žádný atom s valencí 3 (např. N).

=> “**dusíkové pravidlo**”

# Seniorova pravidla

Vychází ze Seniorova teorému z teorie grafů. Podmínky existence molekuly jsou:

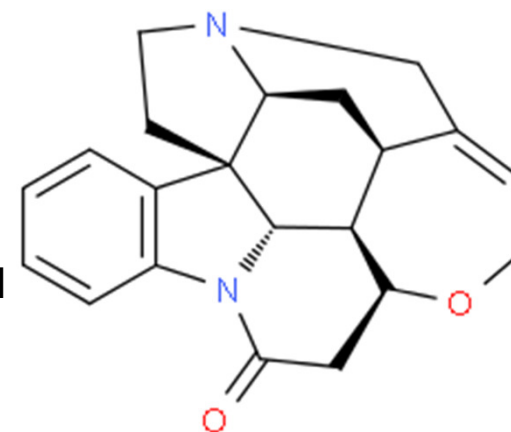
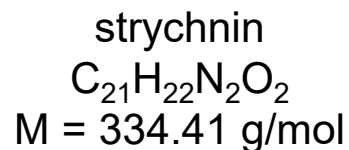
1. Suma valencí nebo celkový počet atomů s lichou valencí jsou sudé.
2. Suma valencí je větší nebo rovna dvojnásobku maximální valence.
3. Suma valencí je větší nebo rovna dvojnásobku ( $N_{\text{tot}} - 1$ )



$$\begin{aligned} V &= 4 \times 6 + 5 \times 1 + 1 \times 15 - 0 \\ &= 44 \\ 44 &> 2 \times 5 \\ 44 &\geq 2(22 - 1) \end{aligned}$$



$$\begin{aligned} V &= 4 \times 1 + 1 \times 2 - 0 = 6 \\ 6 &> 2 \times 4 \\ 6 &\geq 2(3 - 1) \end{aligned}$$



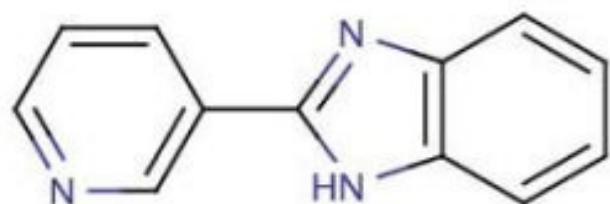
$$\begin{aligned} V &= 4 \times 21 + 6 \times 2 + 5 \times 2 + 1 \times 22 \\ &\quad - 0 = 128 \\ 128 &> 2 \times 6 \\ 128 &\geq 2(47 - 1) \end{aligned}$$

Senior J. K.: *J. Chem. Phys.* 19, 1951, 865-873.

Morikawa T., Newbold B.T. : *Chimija* 12, 2003, 445-450.

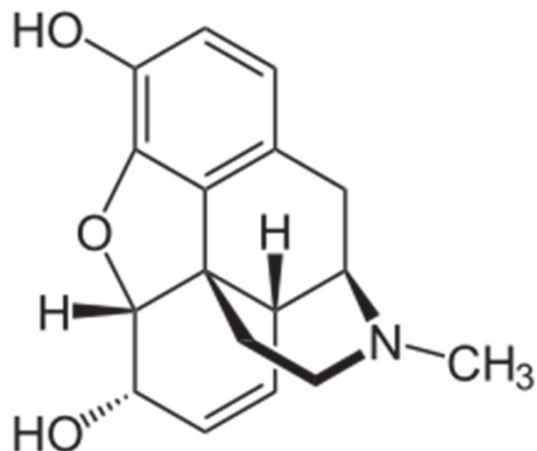
# Odhad počtu vodíků ze vzorce

$$n_H = 2 + 2n_C + n_{N,P} - n_{hal} - 2(R + Db)$$



$$\begin{aligned} n_H &= \mathbf{9} \\ n_C &= 12 \\ n_{N,P} &= 3 \\ R &= 3 \\ Db &= 7 \end{aligned}$$

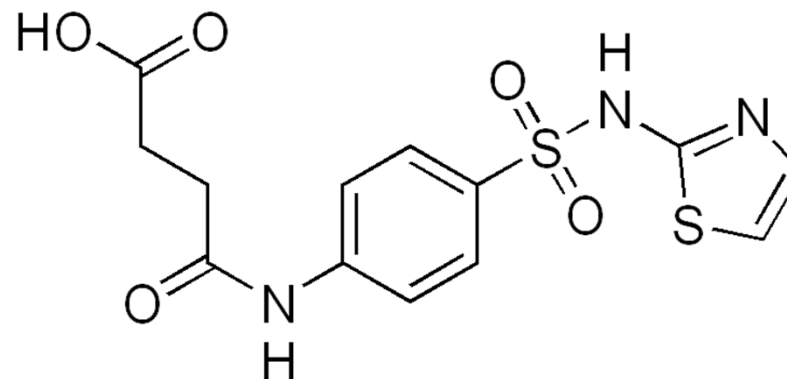
2-(3-pyridyl)-benzimidazol



$$\begin{aligned} n_H &= \mathbf{19} \\ n_C &= 17 \\ n_{N,P} &= 1 \\ R &= 5 \\ Db &= 4 \end{aligned}$$

morphin

$n_H$  = počet atomů vodíku  
 $n_C$  = počet atomů uhlíku  
 $n_{N,P}$  = počet atomů dusíku/fosforu  
 $n_{hal}$  = počet atomů halogenů  
 $R$  = počet cyklů  
 $Db$  = počet dvojných vazeb



succinylsulfathiazol

S=O se nepočítává  
do Db

$$\begin{aligned} n_H &= \mathbf{13} \\ n_C &= 16 \\ n_{N,P} &= 3 \\ R &= 2 \\ Db &= 7 \end{aligned}$$

# Dusíkové pravidlo

**lichý počet dusíků v molekule => lichá molekulová hmotnost**

Dusík je jediný prvek se sudým M a lichou valencí (P a As mají lichou valenci a lichou M).

**Lichý počet atomů s lichou valencí také implikuje lichou hodnotu součtu atomů vodíku a halogenů.**

$$\sum(v_i \cdot n_i) = 2 \cdot \text{konst}$$

Dusíkové pravidlo platí pouze pro neutrální molekuly a ion-radikály, neplatí pro ionty a radikály = nelze je použít pro fragmentové ionty (po ionty a radikály platí opačná parita).

Platí pro molekuly běžných prvků (C, H, N, O, F, Si, P, S, Cl, Br, I). Dusík je jediný z těchto prvků který má sudé atomové číslo a lichou vaznost.

Vhodné pouze pro spektrometry s nízkým rozlišením.

Nevhodné pro  $M > 500$  Da v důsledku akumulace ne-nominálních příspěvků

*Pellegrin V. : J. Chem. Educ. 60, 1983, 626-633*

*Morikawa T., Newbold B.T. : Chimija 12, 2003, 445-450*

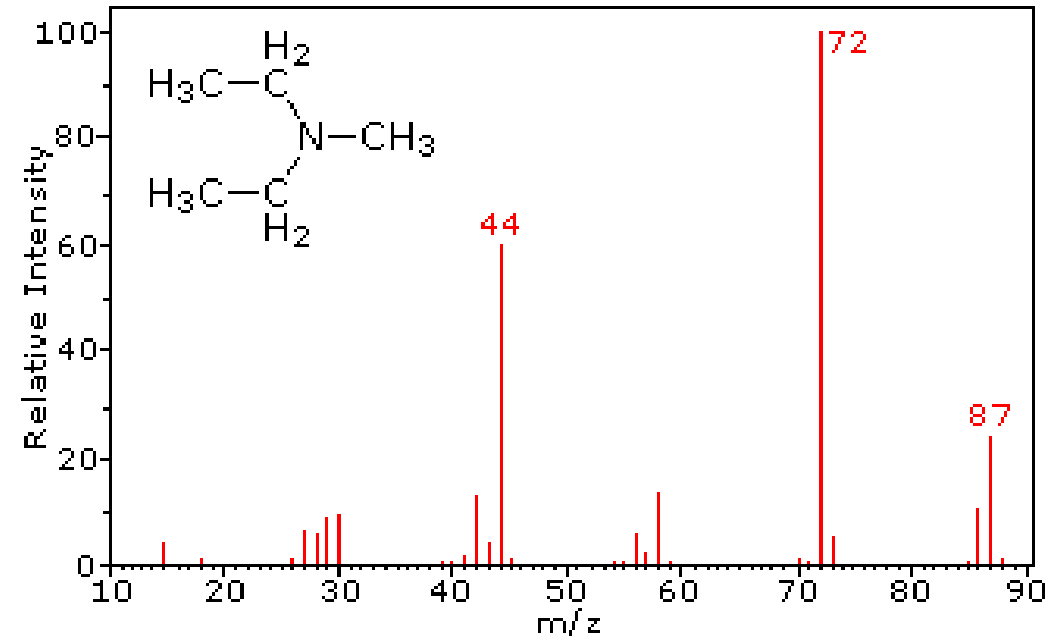
H <sub>2</sub> O,	<i>m/z</i> 18;
CH <sub>4</sub> ,	<i>m/z</i> 16;
C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> ,	<i>m/z</i> 26;
CH <sub>3</sub> OH,	<i>m/z</i> 32;
CClF <sub>3</sub> ,	<i>m/z</i> 104;
C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> OH,	<i>m/z</i> 94;
C <sub>17</sub> H <sub>35</sub> COOH,	<i>m/z</i> 284;
cholesterol, C <sub>27</sub> H <sub>46</sub> O,	<i>m/z</i> 386;
H <sub>2</sub> NNH <sub>2</sub> ,	<i>m/z</i> 32; and
aminopyridine, C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> ,	<i>m/z</i> 94.

NH <sub>3</sub> ,	<i>m/z</i> 17;
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> NH <sub>2</sub> ,	<i>m/z</i> 45; and
quinoline, C <sub>9</sub> H <sub>7</sub> N,	<i>m/z</i> 129.

# Dusíkové pravidlo

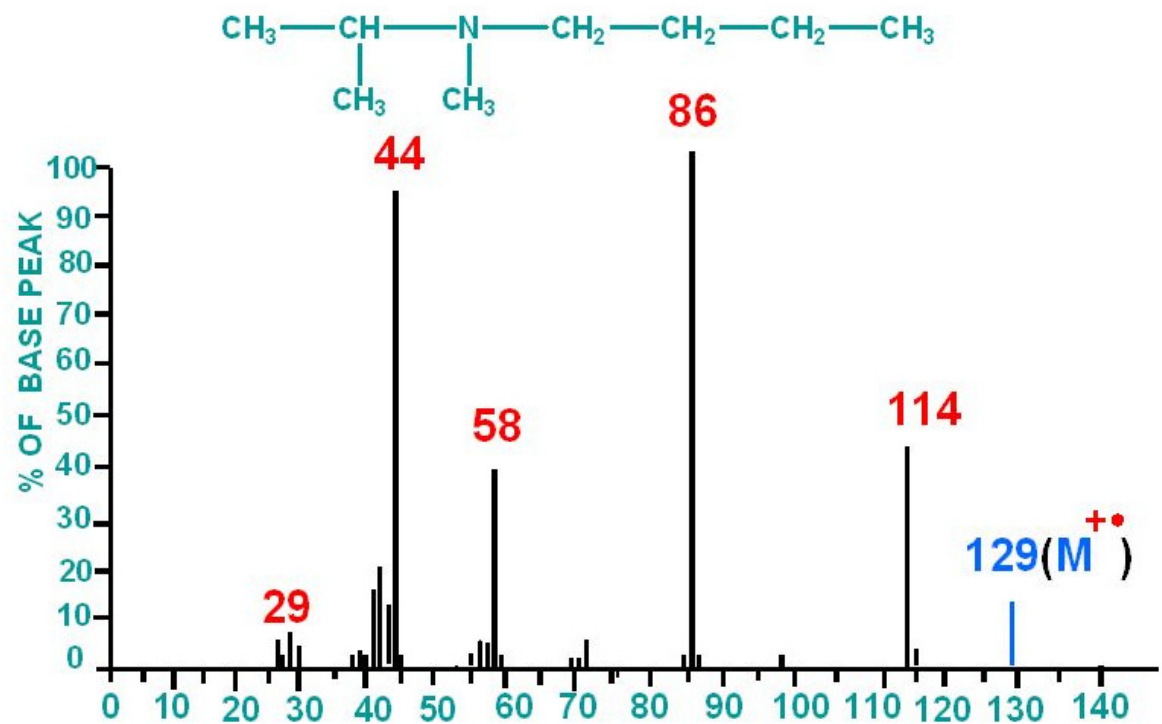
N-methyldiethylamin

M = 87 g/mol



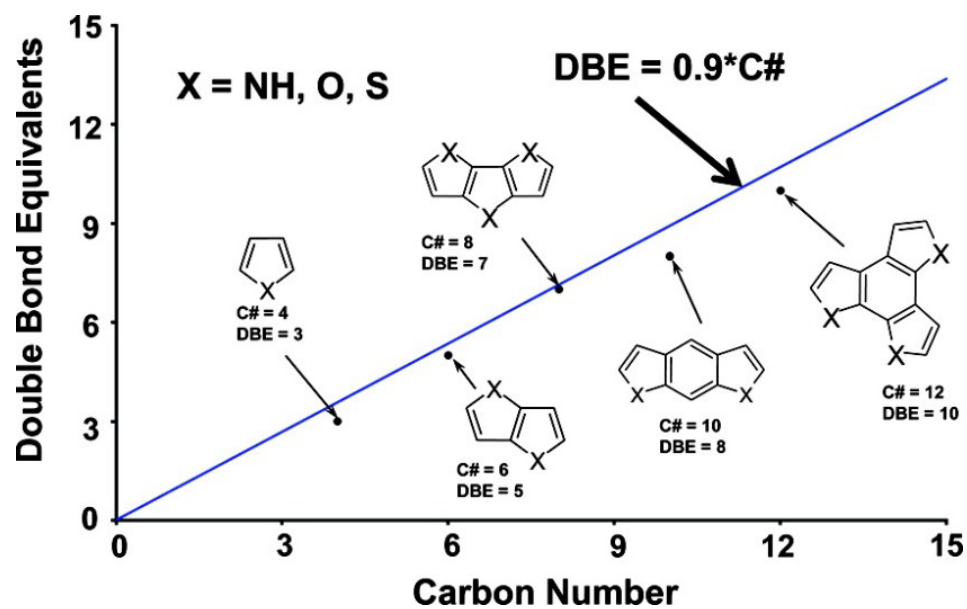
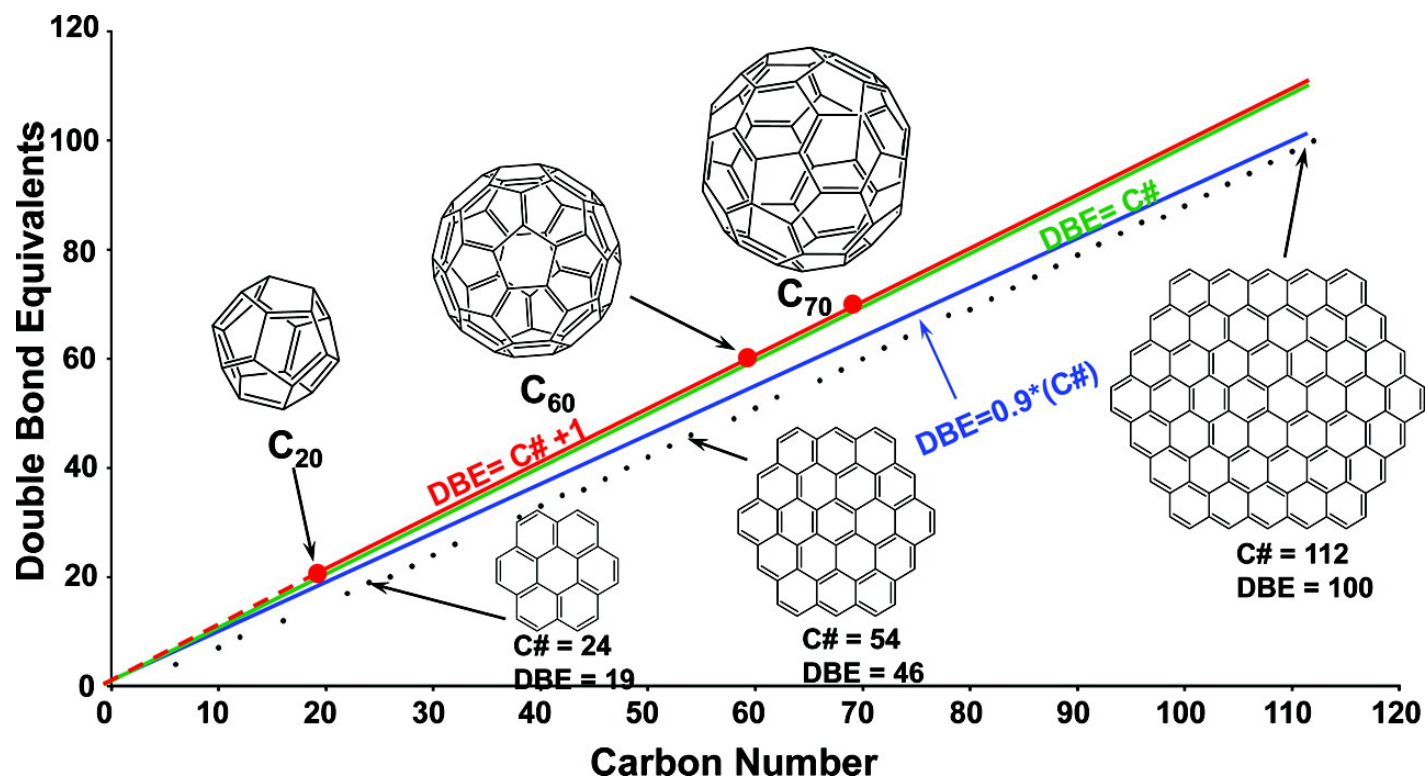
N-isopropyl-N-methylbutan-1-amin

M = 129.24 g/mol



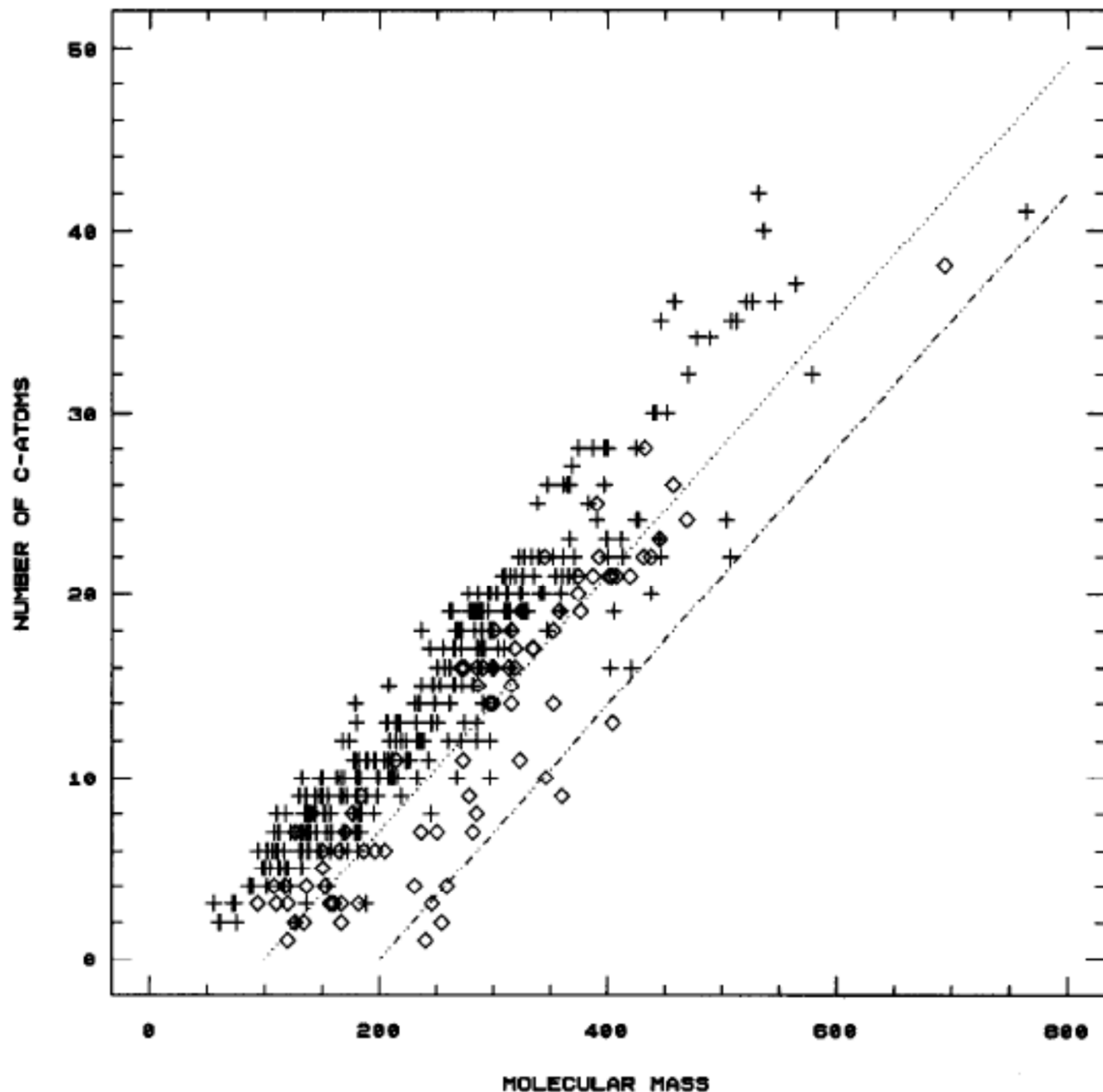
$$\text{DBE} = \text{C} + \text{Si} - 0.5(\text{H} + \text{F} + \text{Cl} + \text{Br} + \text{I}) + 0.5(\text{N} + \text{P}) + 1$$

## Compositional boundaries



Lobodin V. et al. *Anal. Chem.* 84, 2012, 3410-3416



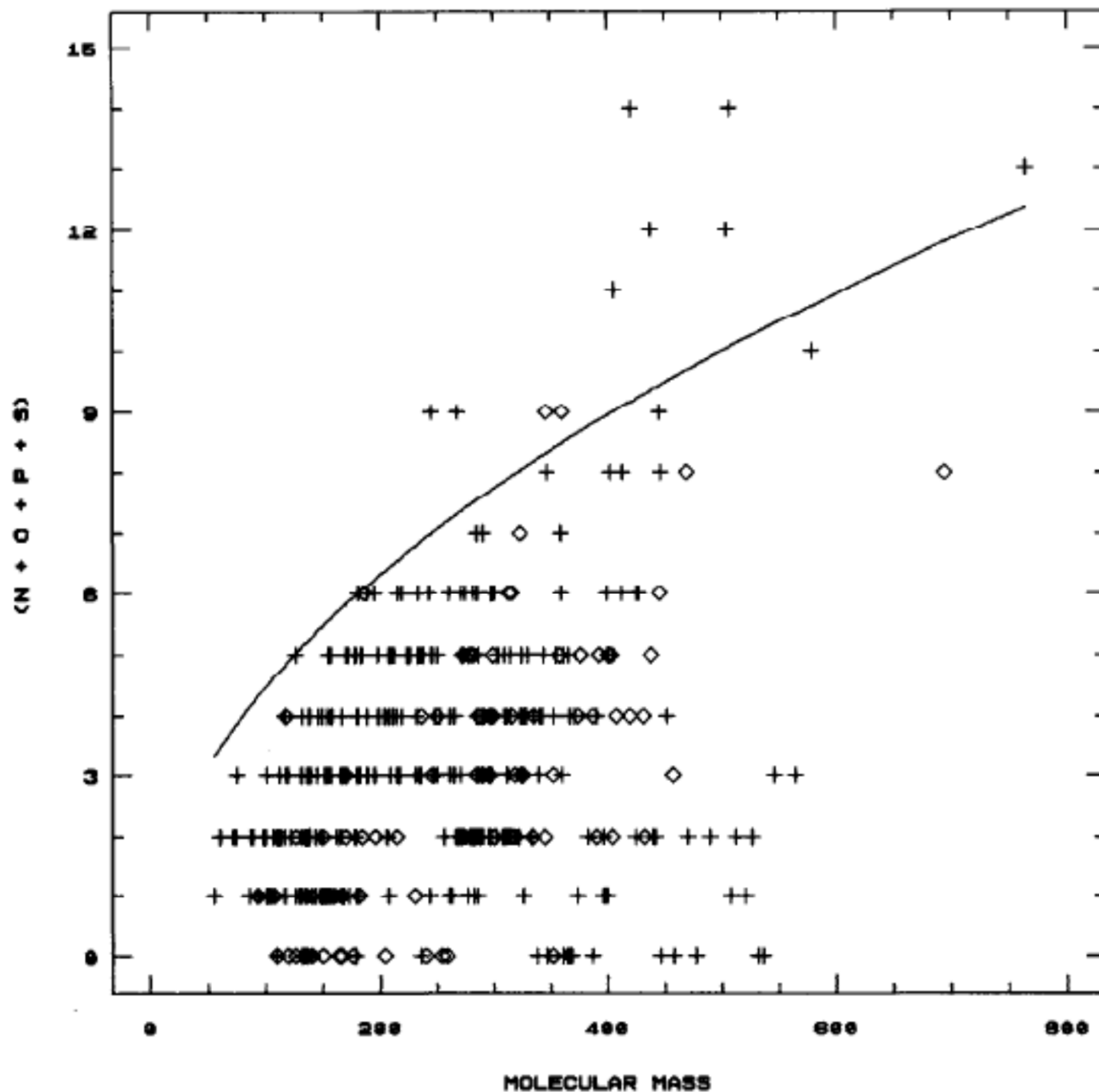


$$n_C = 0.07M - 6.9$$

$$n_C = 0.07M - 14$$

Heuerding S., Clerc J.  
T. : Chemom. Intell.  
Lab. Syst. 20, 1993,  
57-69

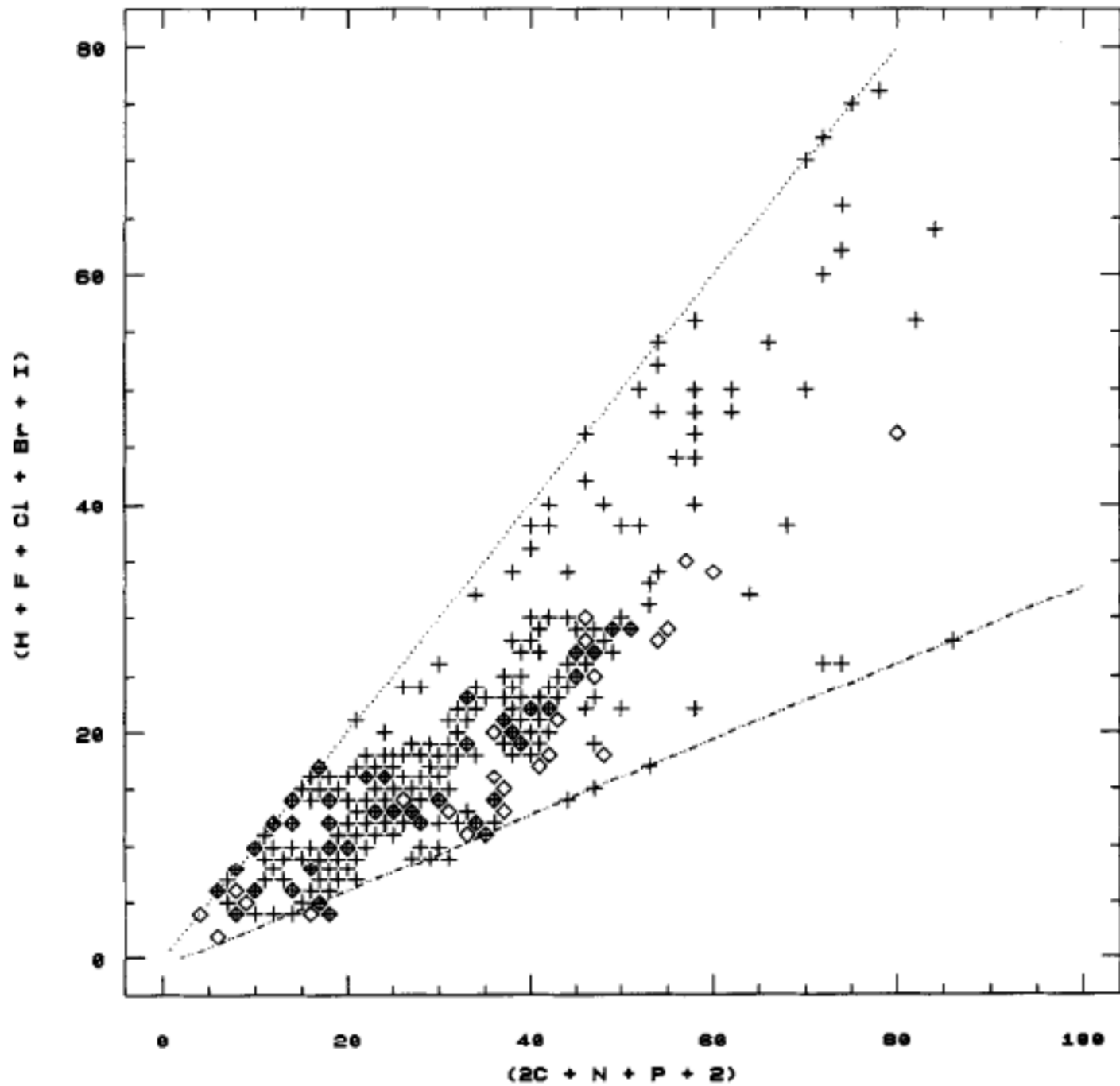
Fig. 1. First filter; lower limit to the number of C atoms. (+) Without halogen atoms; ( $\Delta$ ) with halogen atoms; ( $\cdots$ ) arbitrary lower limit for molecules without halogen atoms; ( $-\cdot-\cdot-$ ) arbitrary lower limit for molecules with halogen atoms.



$$n(\text{N, O, P, S}) \leq \sqrt{0.2M}$$

Heurding S., Clerc J.  
 T. : Chemom. Intell.  
 Lab. Syst. 20, 1993,  
 57-69

Fig. 2. Second filter; upper limit to the number of N, O, P and S. (+) Without halogen atoms; ( $\Delta$ ) with halogen atoms; (—) arbitrary upper limit.



$$n(\text{H, F, Cl, Br, I}) \geq \frac{1}{3}n(2\text{C, N, P}) - \frac{2}{3}$$

Fig. 3. Third filter; dynamic upper limit to the number of double bonds and rings. (+) Without halogen atoms; ( $\Delta$ ) with halogen atoms; ( $\cdots$ ) without double bond equivalents; ( $-\cdots-$ ) arbitrary limit.

# Index aromaticity

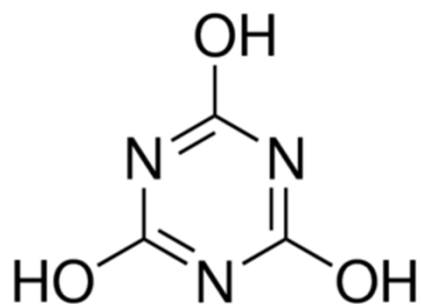
Kondenzované aromatické látky:  $AI > 0.67$

Aromatické látky:  $AI > 0.5$

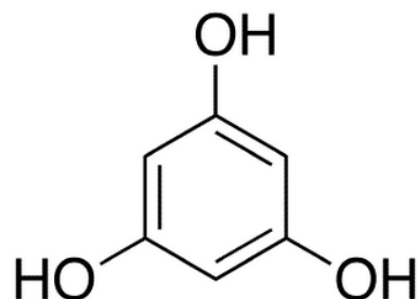
$$DBE_{AI} = 1 + n_C - n_O - n_S - 0.5n_H$$

$$C_{AI} = n_C - n_O - n_N - n_S - n_P$$

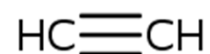
$$AI = DBE_{AI} / C_{AI}$$



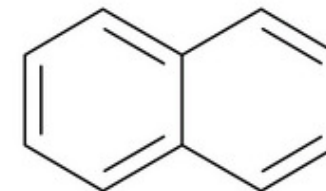
kyselina kyanurová  
 $AI = -0.5/-3 = 0.16$



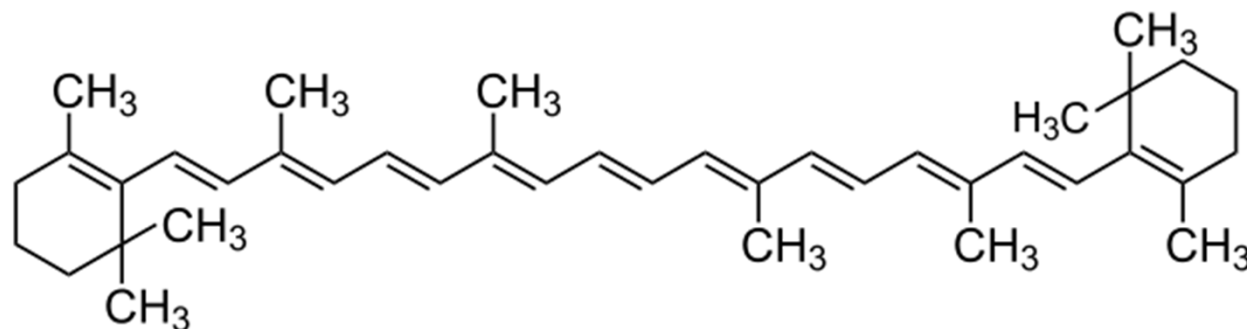
floroglucinol  
 $AI = 1/3 = 0.333$



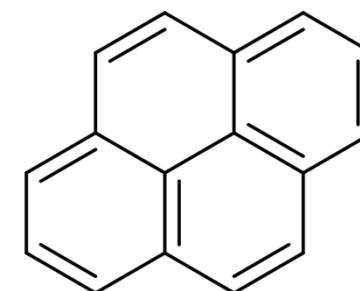
acetylen  
 $AI = 2/2 = 1$



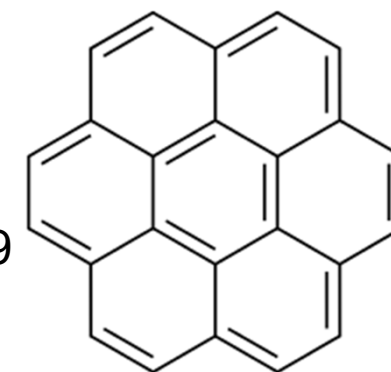
naftalen  
 $AI = 7/10 = 0.70$



beta karoten,  $AI = 13/40 = 0.325$

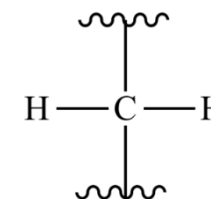


pyren  
 $AI = 12/16 = 0.75$



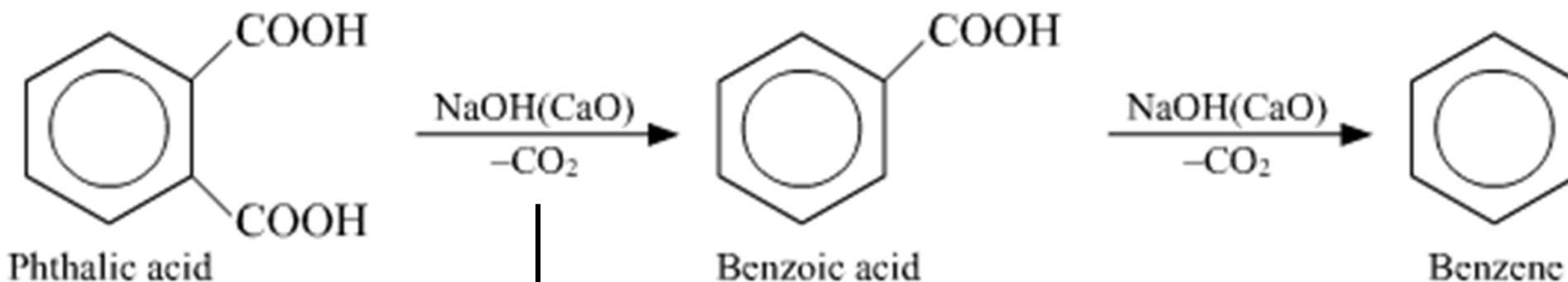
koronen  
 $AI = 19/24 = 0.79$

# Míra oxidace (methylenový ekvivalent)



NORM = „počet dvojelektronových oxidací potřebných syntéze sloučeniny z methylenu“

$$\text{NORM} = \text{počet heteroatomů} + \text{počet } \pi\text{-vazeb} + \text{počet cyklů} - 1$$



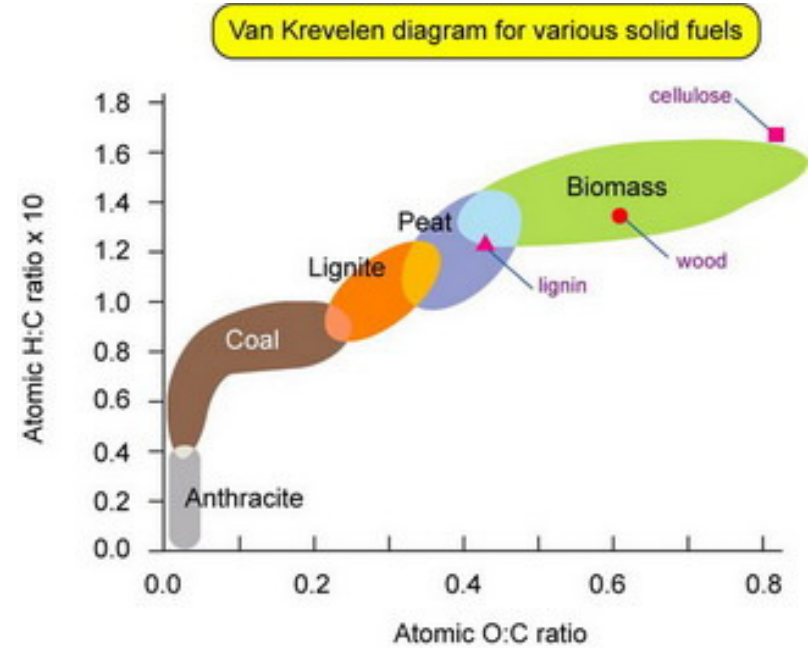
NORM = 9  
počet heteroatomů = 4  
počet  $\pi$ -vazeb = 5  
počet cyklů = 1

NORM = 6  
počet heteroatomů = 2  
počet  $\pi$ -vazeb = 4  
počet cyklů = 1

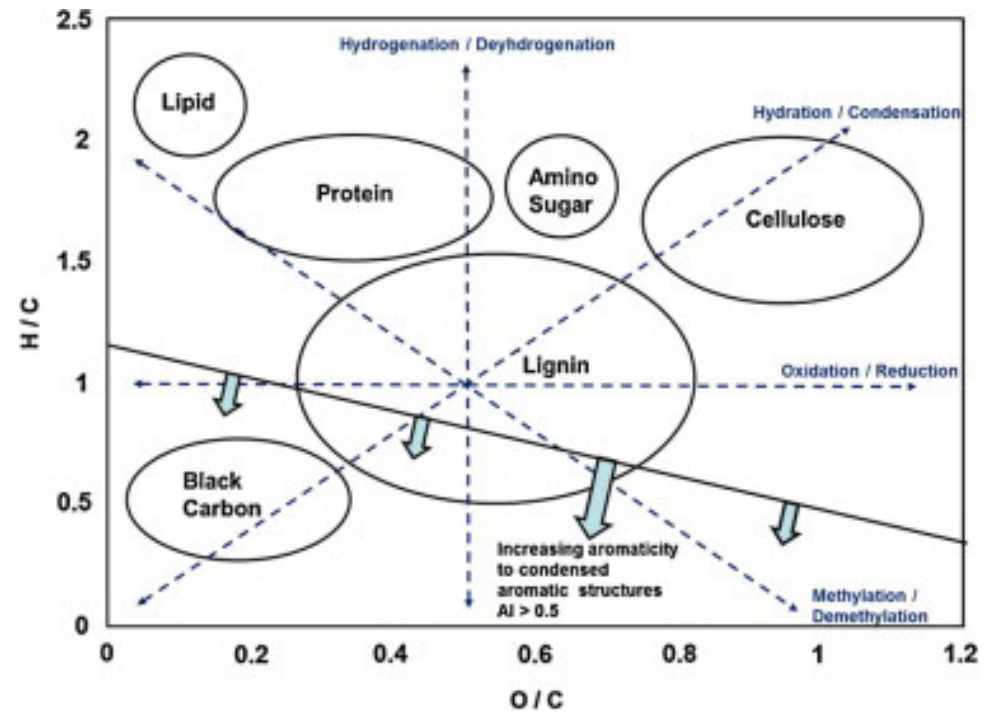
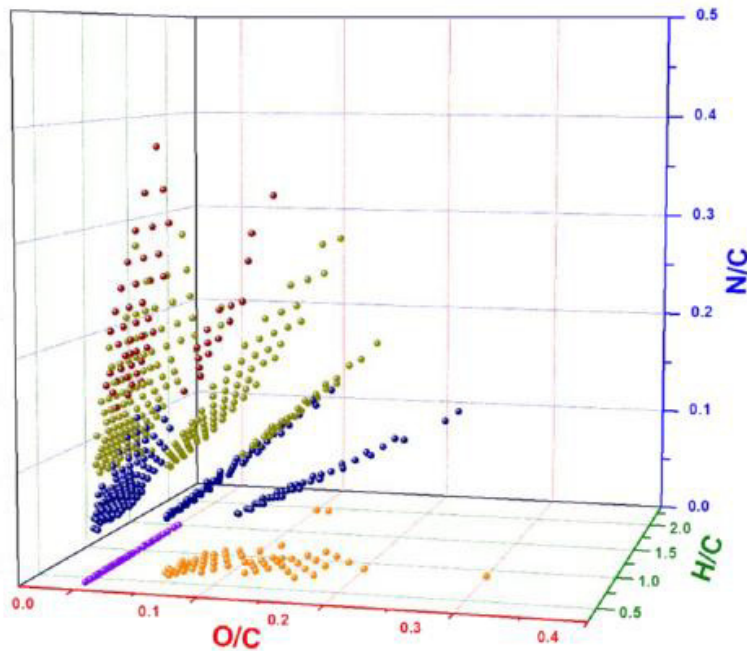
NORM = 3  
počet heteroatomů = 0  
počet  $\pi$ -vazeb = 3  
počet cyklů = 1

NORM = 3  
počet heteroatomů = 2  
počet  $\pi$ -vazeb = 2  
počet cyklů = 0

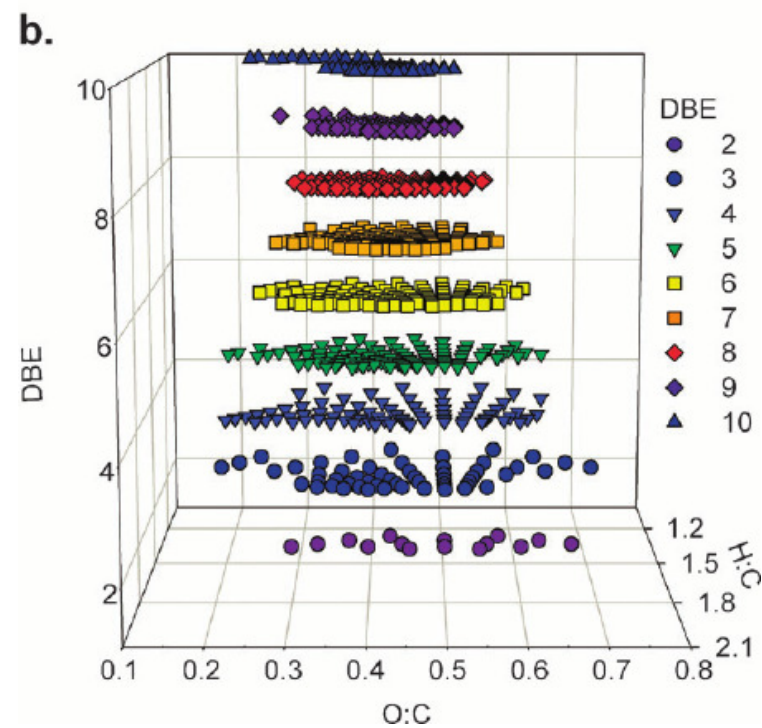
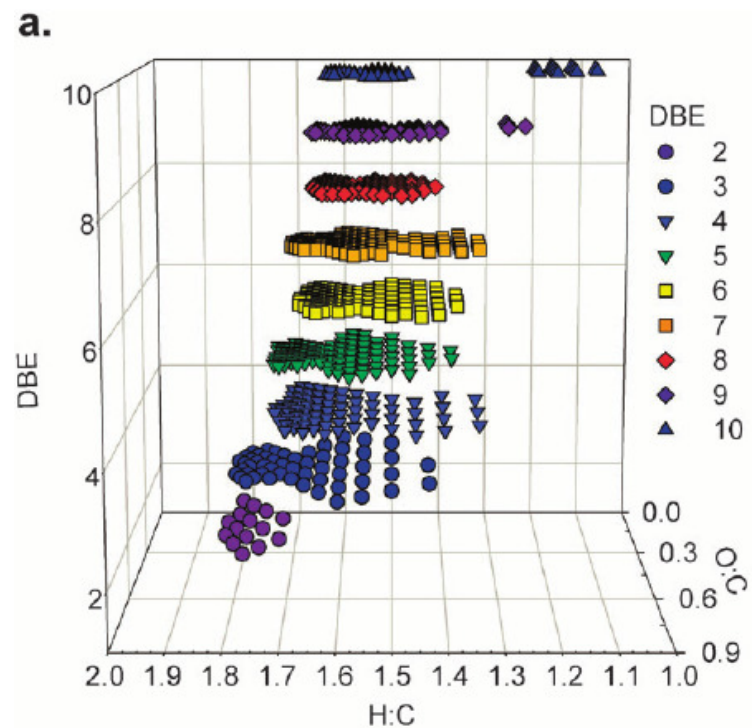
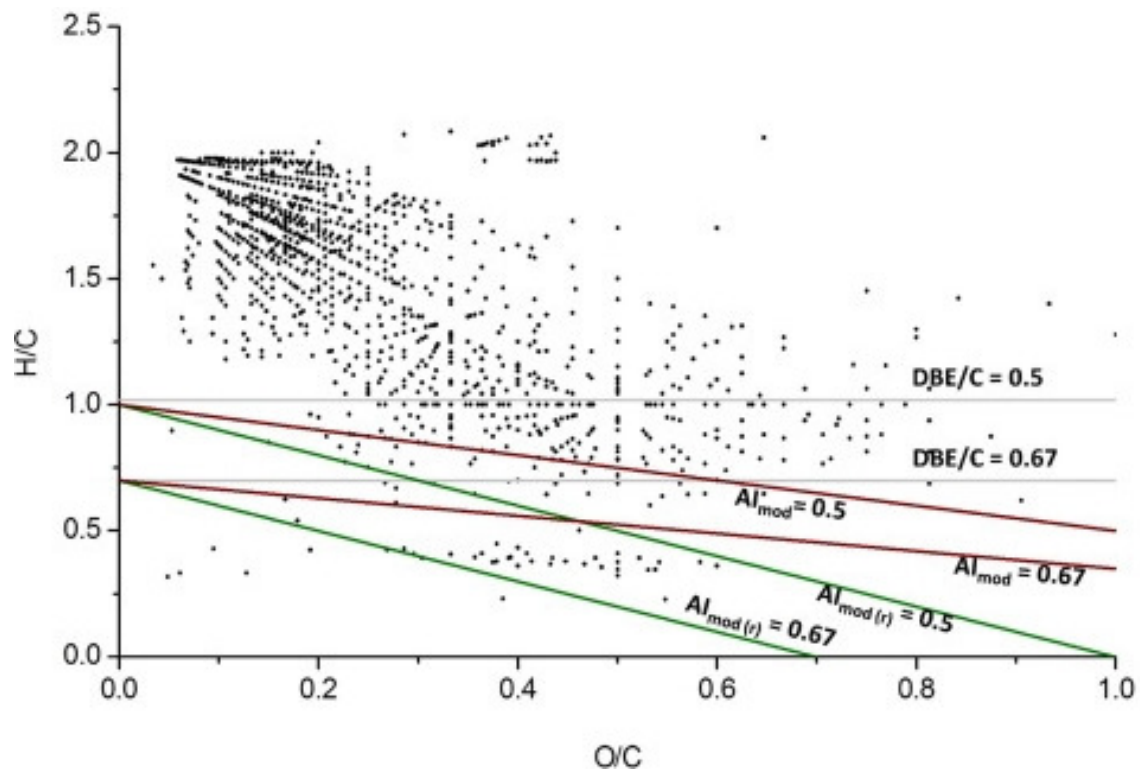
# Van Krevelen diagram



- $C_n H_m^{+(-)}$
- $C_n H_m O_p^{+(-)}$
- $C_n H_m O_p N^{+(-)}$
- $C_n H_m O_p N_2^{+(-)}$
- $C_n H_m O_p N_3^{+(-)}$



# Van Krevelen diagram



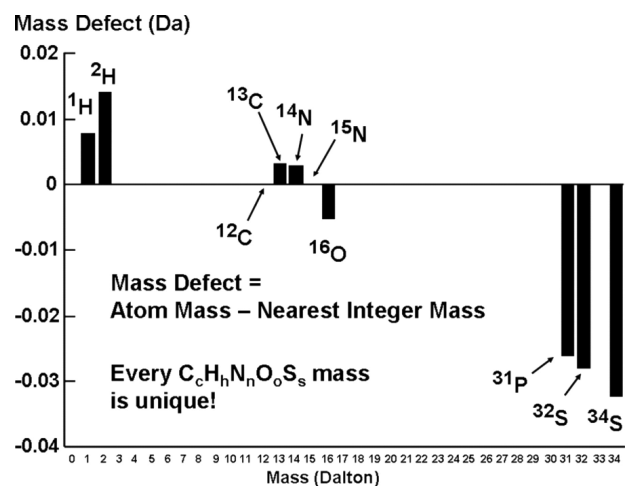


# Kendrickův hmotnostní deficit

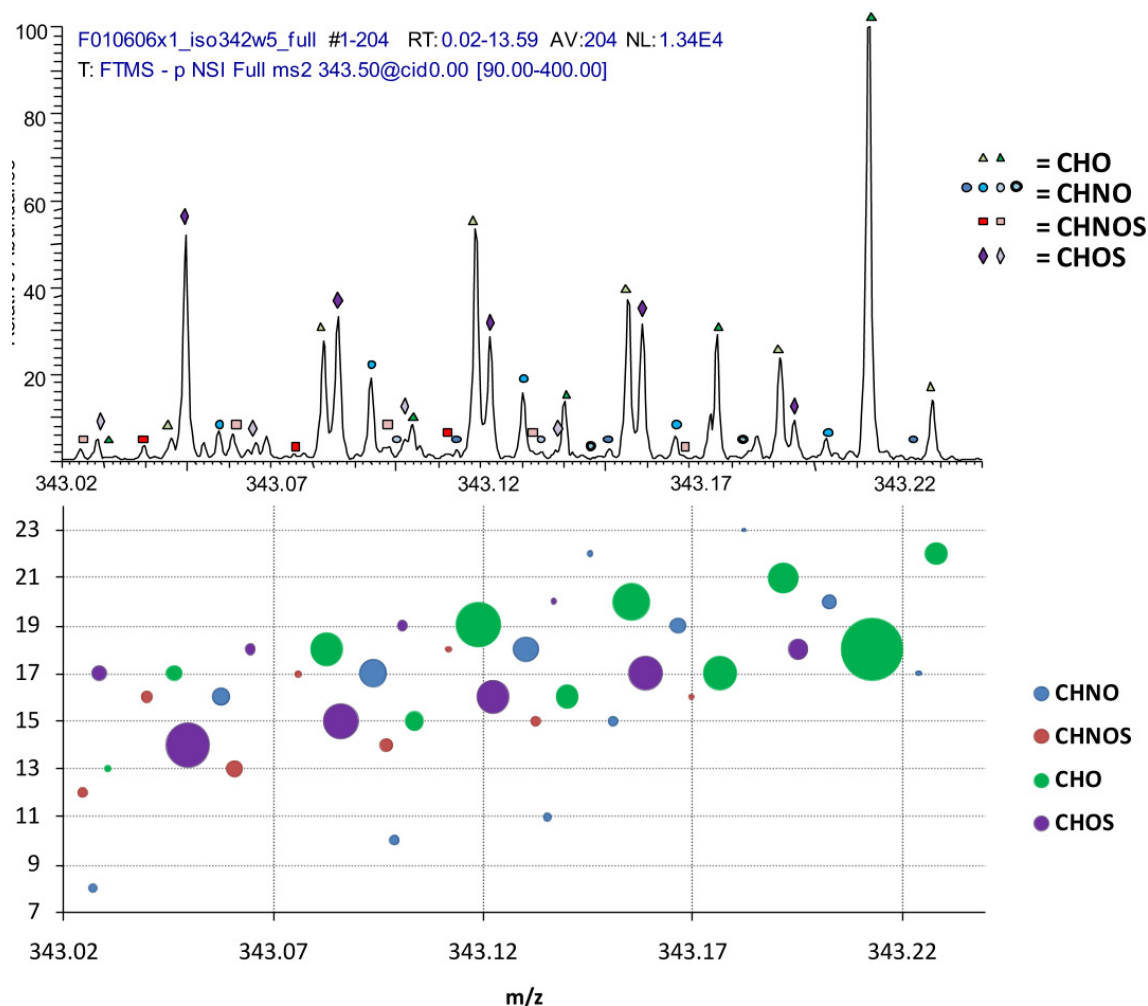
= pouze pro MS s vysokým rozlišením

**Kendrick mass** = IUPAC mass  $\times$  (14.00000/14.01565)  $\sim$  CH<sub>2</sub>

**Kendrick mass defect** = (Kendrick nominal mass - Kendrick exact mass)

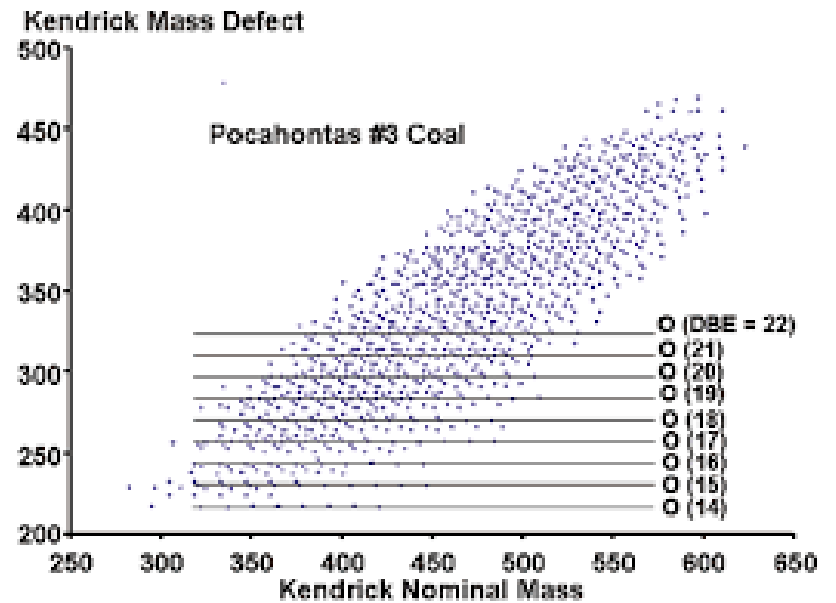
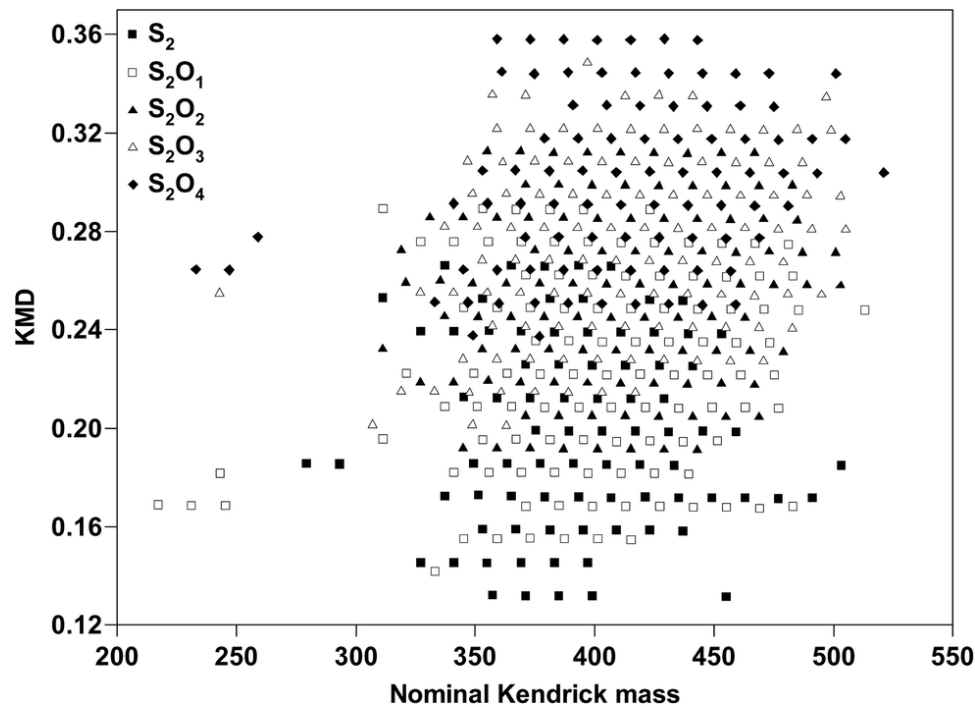
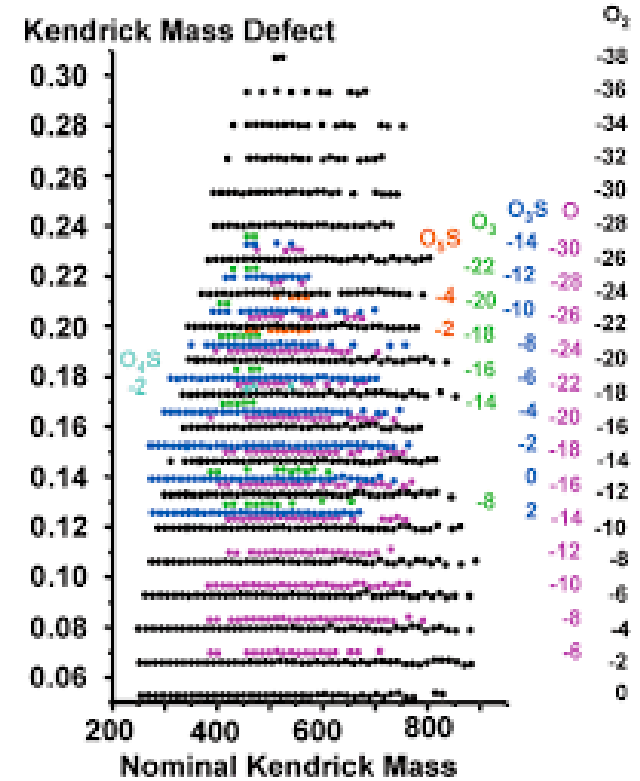
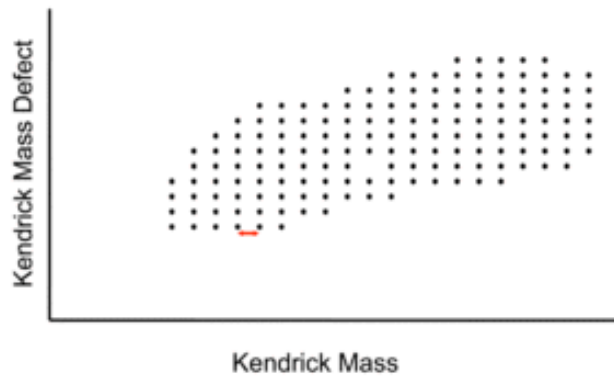


Element	Nuclide	Nominal Mass	Exact Mass	Mass Defect
Hydrogen	H	1	1.0078	0.0078
Carbon	<sup>12</sup> C	12	12.0000	0.0000
Nitrogen	<sup>14</sup> N	14	14.0031	0.0031
Oxygen	<sup>16</sup> O	16	15.9949	-0.0051
Fluorine	<sup>19</sup> F	19	18.9984	-0.0016
Sulfur	<sup>32</sup> S	32	31.9721	-0.0279
Chlorine	<sup>35</sup> Cl	35	34.9689	-0.0311

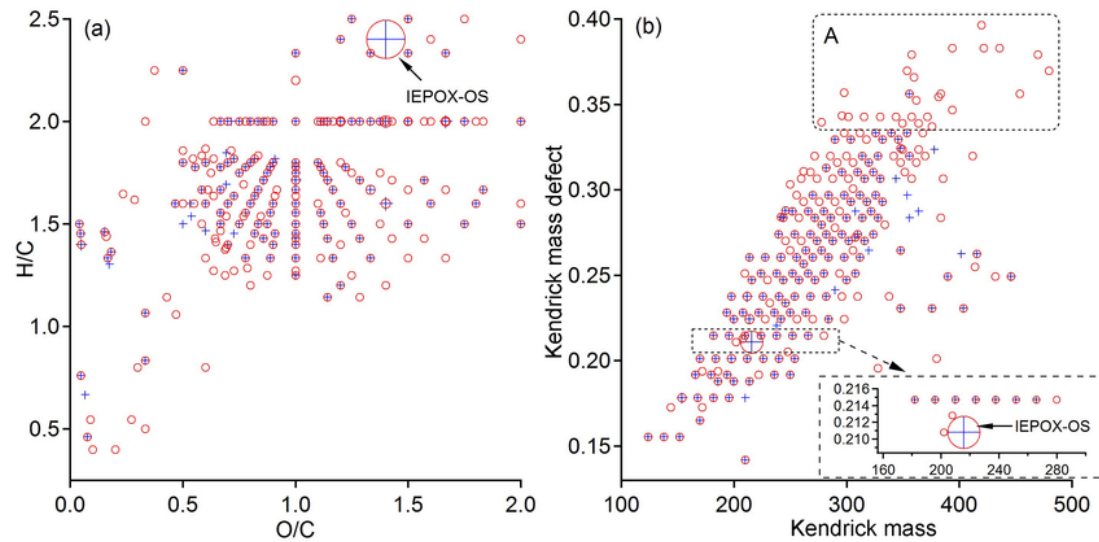
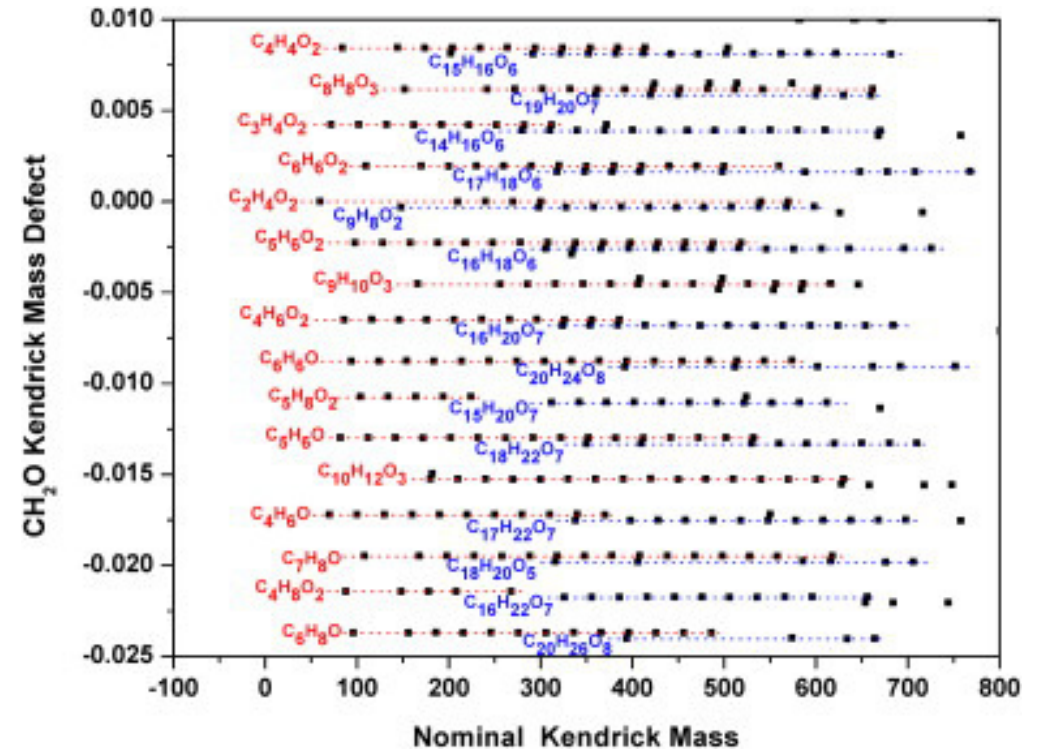
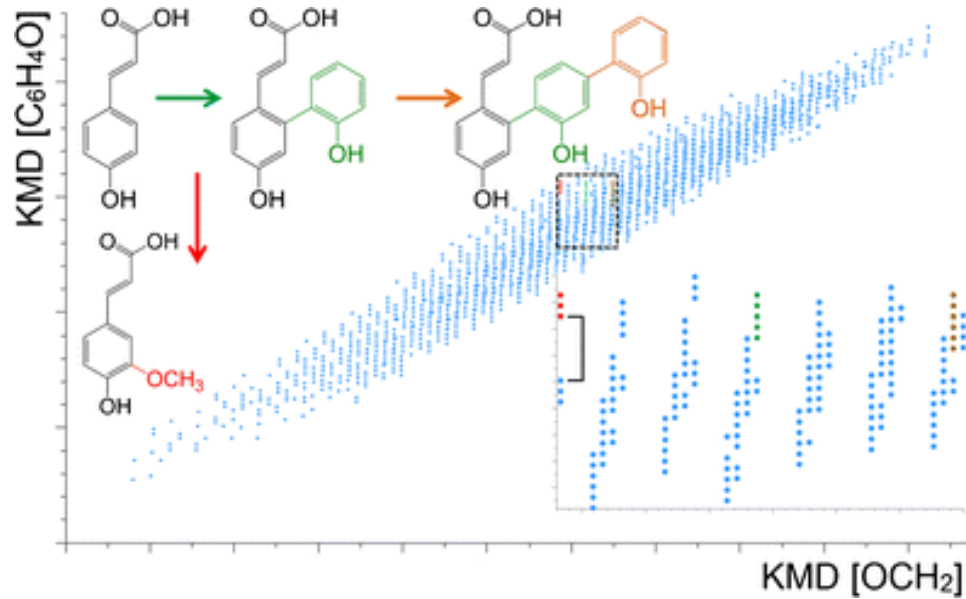




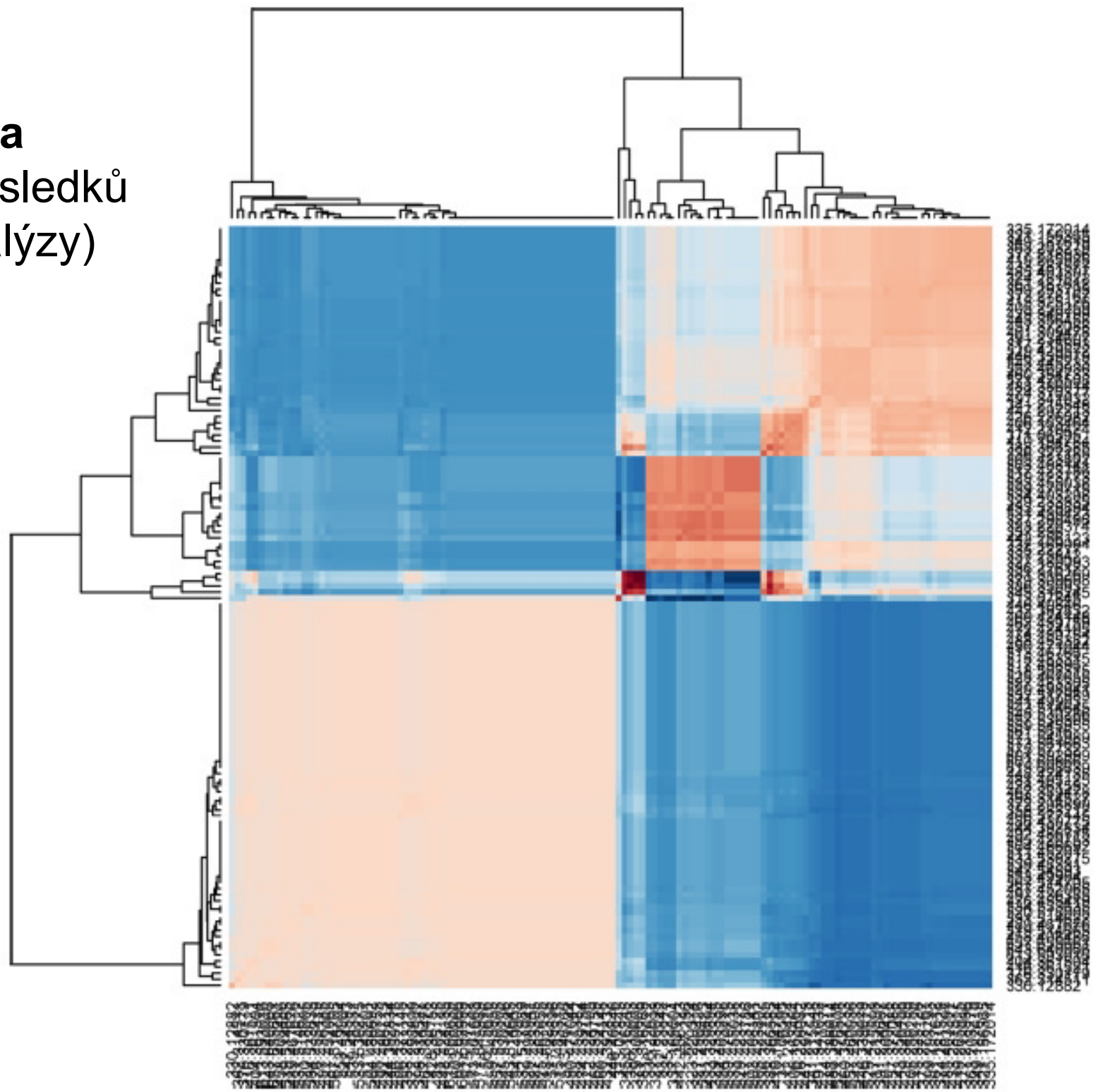
# Kendrickův graf



# Kendrickův graf

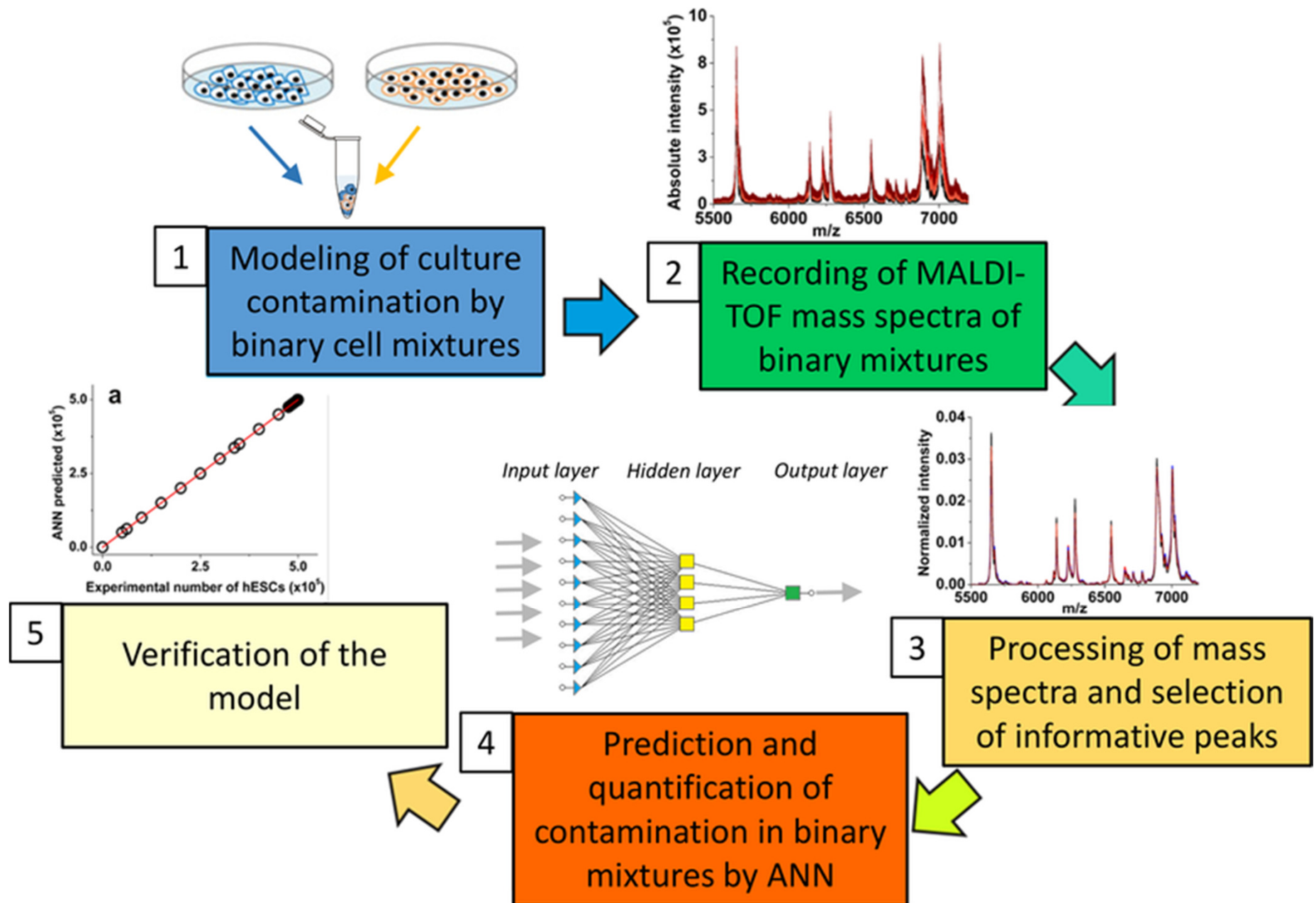


# Heatmap (vizualizace výsledků shlukové analýzy)



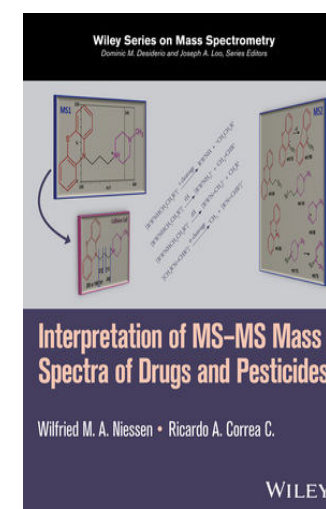
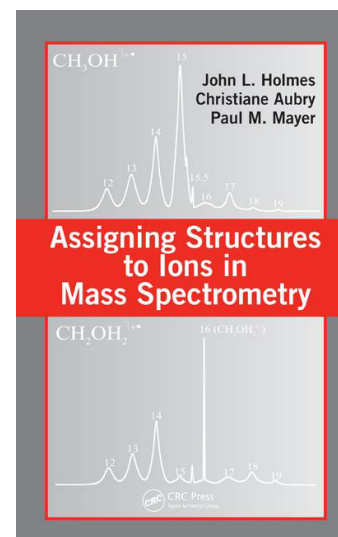
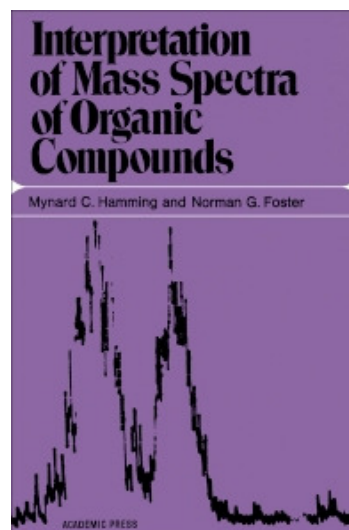
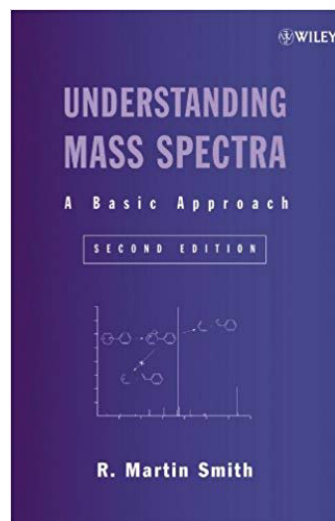
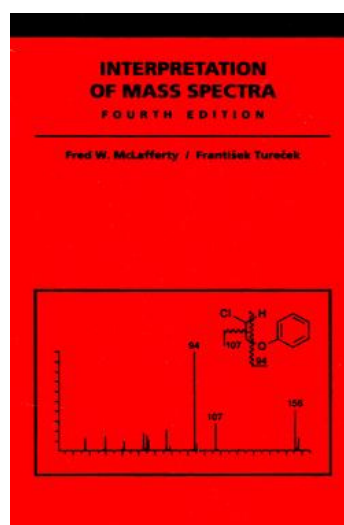
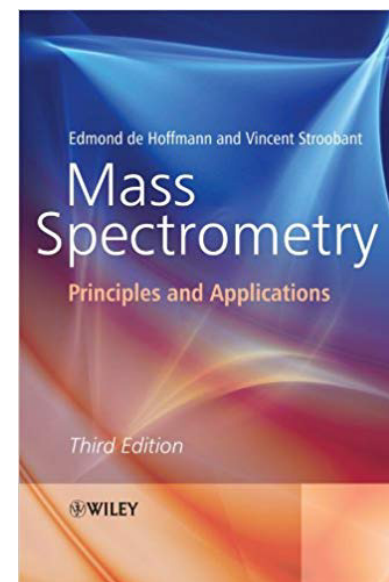
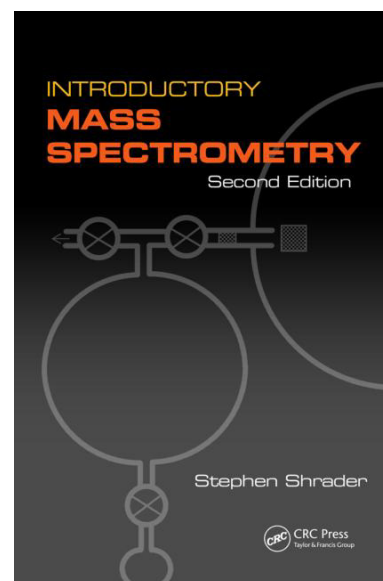
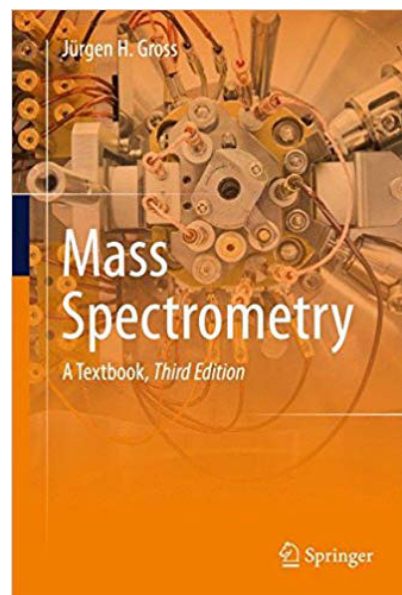


# Umělé neuronové sítě (ANN)





# Literatura



# Mass Spectrometry



*"Okay—who put my lunch through the mass spectrometer..?"*

**Děkuji za pozornost !!**