

I. Dane Klienta

Nazwa i adres Klienta	Mateusz Kurlus SmatChem.pro ul. Piękna 61/3 60-589 Poznań
Numer Umowy/ Zlecenia usług laboratoryjnych/ Zlecenia wewnętrznego*	ZK/04/05/2023

*niepotrzebne skreślić

II. Miejsce wykonania badań

Nazwa i adres wykonawcy	Sieć Badawcza Łukasiewicz – PORT Polski Ośrodek Rozwoju Technologii, ul. Stabłowicka 147, 54-066 Wrocław Tel: +48 71 734 7777, email: biuro@port.lukasiewicz.gov.pl
Nazwa/-y laboratorium/-ów	Laboratorium Analiz Spektroskopowych i Spektrometrycznych (Spy-Lab)

III. Identyfikacja obiektów do badań

Numer Protokołu przyjęcia obiektów do badań	0322-22
Metoda pobrania obiektów do badań	Próbki pobrane przez Klienta bez podania metody pobrania
Dane dostarczone przez Klienta, w tym informacje od Klienta które mogą wpływać na ważność wyników	Nie dotyczy
Dodatkowe informacje	Nie dotyczy



Łukasiewicz
PORT
Polski Ośrodek
Rozwoju
Technologii

SPRAWOZDANIE Z BADAŃ
NR Spy-Lab-2023-051
Z 2023-06-01

Strona: 2 z 11

Egzemplarz nr 2

IV. Informacje o obiektach do badań

Opis obiektu do badań	Nr identyfikacyjny/nazwa obiektu do badań nadana przez Klienta	Wielkość obiektu do badań (masa/objętość/ wymiary)	Kod obiektu do badań
Bromantan	Bromantan (CAS: 87913-26-6)	1 g	23-2034B

V. Realizacja i wyniki badań*

Nazwa laboratorium	Laboratorium Analiz Spektroskopowych i Spektrometrycznych (Spy-Lab)
Cel badania	Do celów wewnętrznych Zamawiającego
Wyniki mogą być stosowane w obszarze regulowanym prawnie:	☐ Tak - w metodach (wymień metody)
	☒ Nie
Data rozpoczęcia badania	2023-05-26
Data zakończenia badania	2023-05-26
Identyfikacja wyposażenia pomiarowego (nazwa, typ)	Spektrometr mas typu ESI-Q-TOF, maXis impact (Bruker Daltonics) Chromatograf cieczowy UltiMate3000 RSLC (Dionex)
Metoda badawcza (nazwa, numer edycji, data wydania, symbol (A), (N), (P-AB...) lub (W) **	Analiza jakościowa metodą LC-APCI-MS/MS (N)

VI. Wyniki

Próbka bromantan (23-2034B)

Rt ok. 18,7 min;

Masa monoizotopowa jonu $[M+H]^+$: 306,0860 m/z

Wzór sumaryczny jonu $[M+H]^+$: $C_{16}H_{21}BrN$

Błąd masy: 2,5 ppm

Identyfikacja: bromantan, $C_{16}H_{20}BrN$

Względna zawartość bromantanu: 91,2%*

*względem pola powierzchni wszystkich pików na chromatogramie uzyskanym przy określonych w metodzie warunkach jonizacji i rozdzielu chromatograficznego

Rt ok. 19,1 min;

Masa monoizotopowa jonu $[M+H]^+$: 693,1797 m/z

Wzór sumaryczny jonu $[M+H]^+$: brak jednoznacznych wyników

Błąd masy: brak

Identyfikacja: brak

Rt ok. 20,0 min;

Masa monoizotopowa jonu $[M+H]^+$: 313,2741 m/z

Wzór sumaryczny jonu $[M+H]^+$: $C_{19}H_{37}O_3$

Błąd masy: 1,1 ppm

Identyfikacja: brak

Rt ok. 21,7 min;

Masa monoizotopowa jonu $[M+H]^+$: 341,3049 m/z

Wzór sumaryczny jonu $[M+H]^+$: $C_{21}H_{41}O_3$

Błąd masy: -0,4 ppm

Identyfikacja: brak

Szczegółowa analiza chromatogramu i widm MS i MS/MS, wraz z wyznaczonymi prawdopodobnymi wzorami sumarycznymi jonów oraz proponowanymi wzorami strukturalnymi cząsteczek, znajdują się w sekcji 'Dodatkowe informacje' niniejszego sprawozdania.

Wszystkie przedstawione wzory strukturalne stanowią jedynie propozycje. W próbkach możliwe jest występowanie izomerów strukturalnych w stosunku do zaproponowanych wzorów strukturalnych.

VII. Dodatkowe informacje

a. Przygotowanie próbki do analiz LC-MS/MS

Oważono ok. 2 mg próbki i rozcieńczono metanolem do stężenia 1,0 mg/ml. Następnie rozcieńczono 100-krotnie metanolem. Tak przygotowaną próbkę nastrzykiwano na kolumnę chromatograficzną.

Wykorzystano odczynniki o czystości LC-MS. Do serii próbek przygotowano próbkę ślepą rozpuszczalnikową.

b. Parametry LC

Kolumna chromatograficzna	Synchronis 2,1 × 100 mm × 1,7 μm, Thermo Scientific
Faza ruchoma A	woda+0,2% kwas mrówkowy
Faza ruchoma B	metanol+0,2% kwas mrówkowy
Przepływ	300 μl/min
Temperatura kolumny	35°C
Gradient	50–95%B w ciągu 15 min, 95–99%B do 25,5 min
Nastrzyk	20 μl

c. Parametry APCI-MS/MS

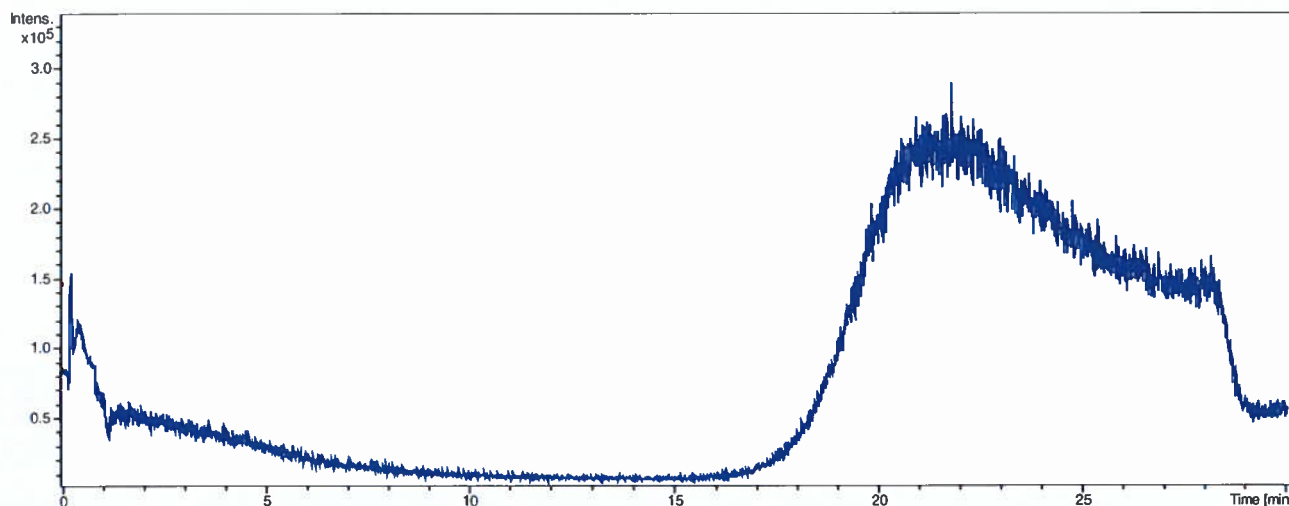
Tryb jonów	dodatni
Metoda pomiaru	full-scan, auto MSMS
Napięcie kapilary	2500 V
Zakres pomiaru	100–1600 m/z

Nebulizator	1,2 bar
Gaz suszący	7,0 L/min
Temperatura gazu suszącego	220°C
Energia źródła jonów	5 eV
Energia kolizji	5 eV
Odciecie niskich mas	100 m/z
Kalibracja	zewnętrzna na APCI-L low concentration mix (Agilent) SD ≤ 1 ppm, score = 100%

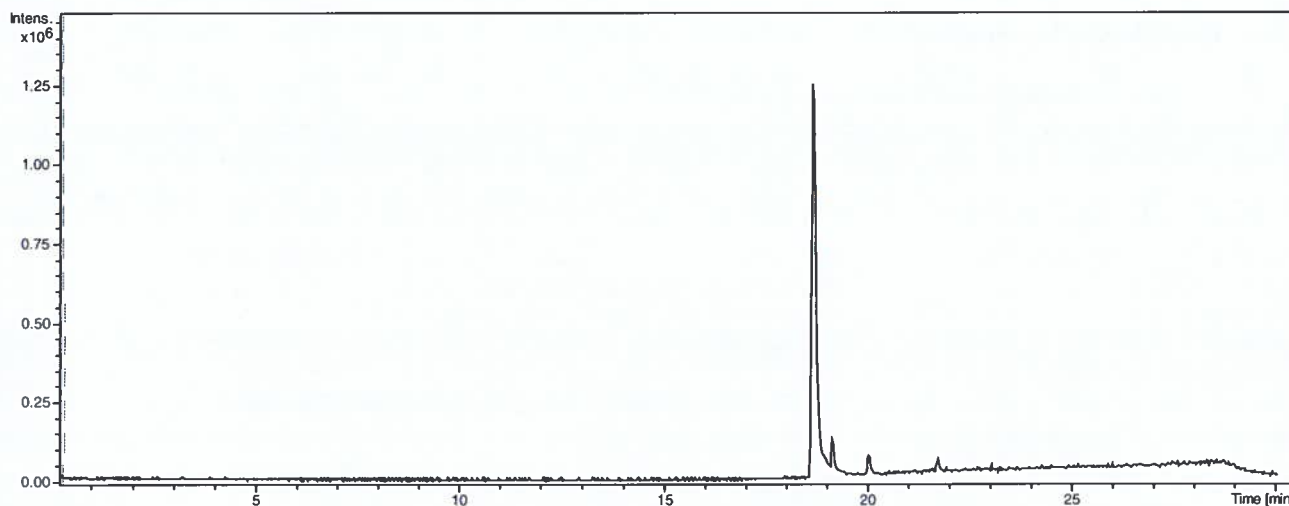
d. Analiza danych
Oprogramowanie

Data Analysis 4.1 (Bruker, Niemcy) – dekonwolucja i kalibracja widm APCI-MS oraz chromatogramów; do wyznaczania wzorów sumarycznych wykorzystano opcję SmartFormula, standardowo przyjmując maksymalny dopuszczalny błąd na poziomie 10 ppm; wzory wyznaczono zakładając zawartość pierwiastków: H, C, N, O, Br i Na. Wyniki dla wszystkich próbek zostały przedstawione w postaci chromatogramów pików bazowych (BPC).

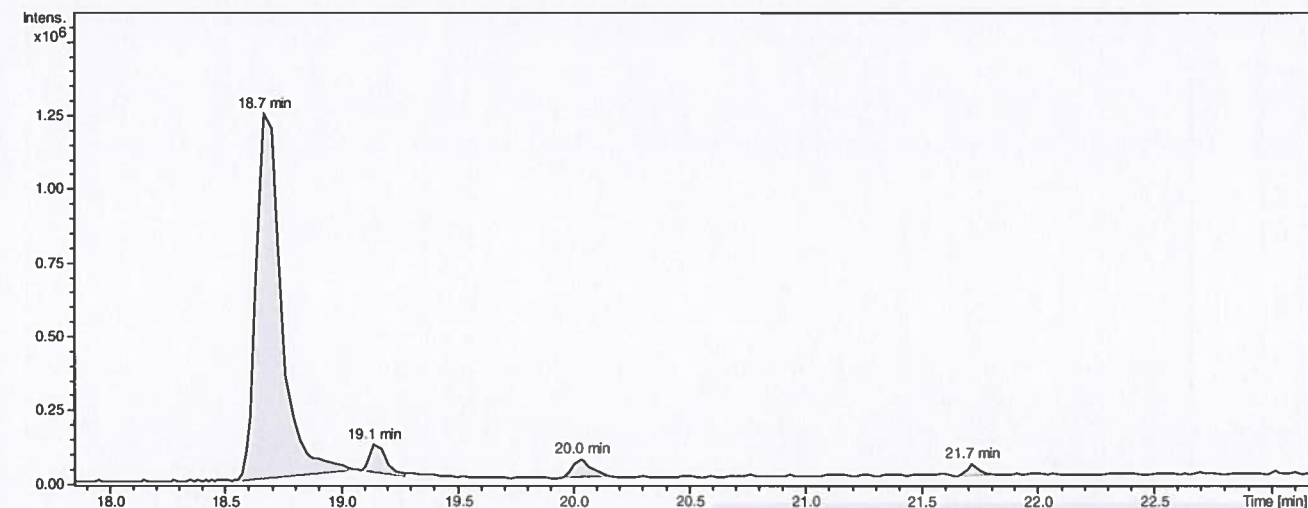
Chromatogram BPC próbki rozpuszczalnikowej (metanol)



Chromatogram BPC próbki bromantan (23-2034B)



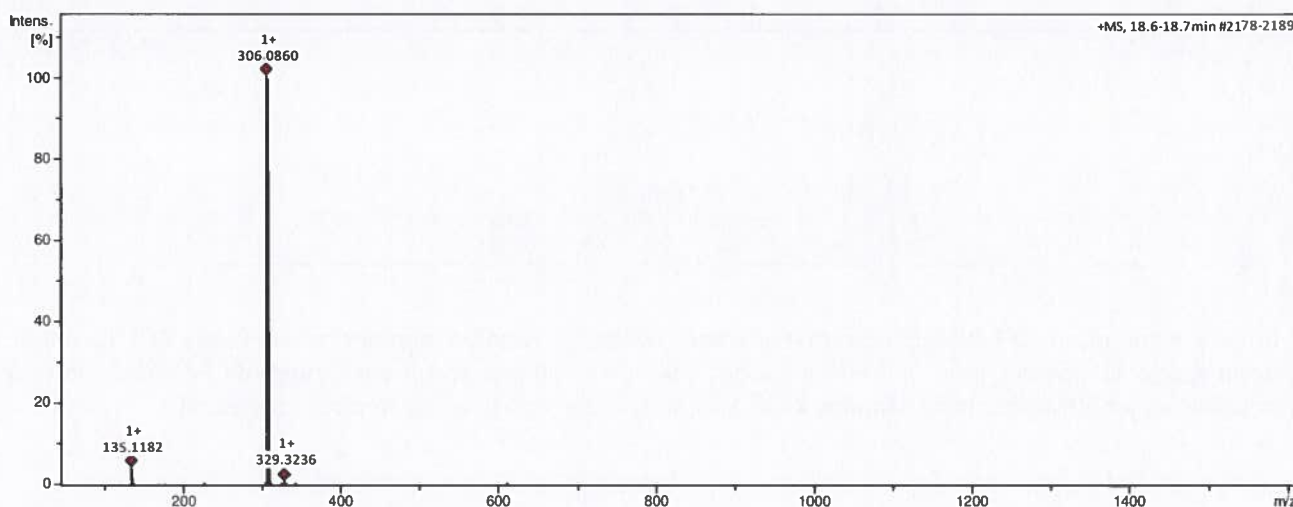
W próbce bromantan (23-2034B) zidentyfikowano 4 główne składniki o czasach retencji: ok. 18,7, 19,1, 20,0 i 21,7 min (przedstawione na chromatogramie poniżej).



#	RT [min]	Area	Int. Type	I	S/N	Chromatogram	Max. m/z
1	18.7	9313149	Manual	1255328	500.8	BPC +All MS	306.0860
2	19.1	455575	Manual	129812	35.9	BPC +All MS	693.1799
3	20.0	300376	Manual	81228	23.2	BPC +All MS	313.2743
4	21.7	136583	Manual	66608	15.4	BPC +All MS	341.3050

Pik przy 18,7 min stanowi 91,2% pola powierzchni względem wszystkich pików zidentyfikowanych na chromatogramie uzyskanym w określonych w metodzie warunkach jonizacji i rozdzielu chromatograficznego.

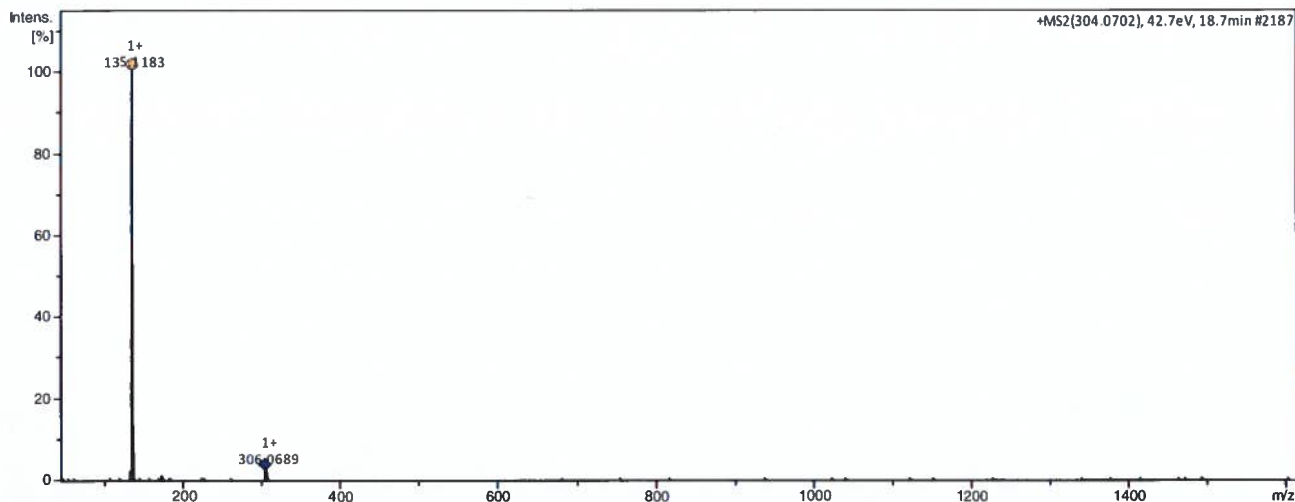
Widmo APCI-MS pików o czasie retencji ok. 18,7 min próbki bromantan (23-2034B) w trybie jonów dodatnich



Wyznaczone wzory sumaryczne jonów:

Meas. m/z	#	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma	# Sigma	Score	rdb	e- Conf	N-Rule
135.1182	1	C10H15	135.1168	-10.2	3.6	1	100.00	3.5	even	ok
306.0860	1	C16H21BrN	306.0852	2.5	11.2	1	100.00	6.5	even	ok
329.3236	1	C24H41	329.3203	10.0	21.5	1	100.00	4.5	even	ok

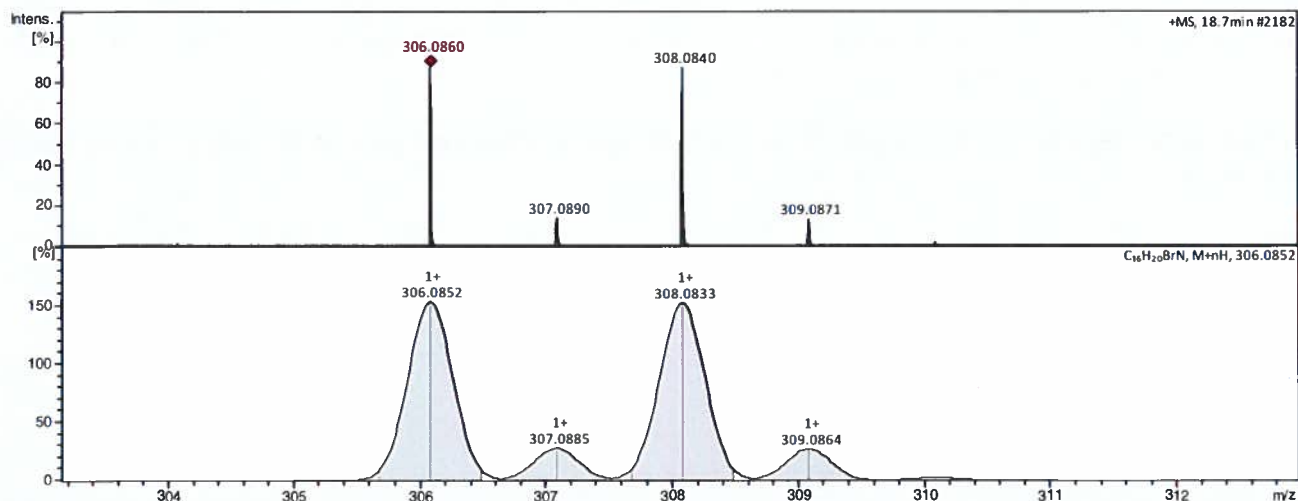
Widmo APCI-MS/MS pików o czasie retencji ok. 18,7 min dla jonów przy ok. 306 m/z próbki bromantan (23-2034B) w trybie jonów dodatnich



Wyznaczone wzory sumaryczne fragmentów:

Meas. m/z	#	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma	# Sigma	Score	rdb	e— Conf	N-Rule
135.1183	1	C10H15	135.1168	-11.1	10.1	1	100.00	3.5	even	ok

Obwiednia izotopowa jonów przy ok. 306 m/z, góra (uzyskana), dół (symulacja):



W próbce bromantan (23-2034B) zidentyfikowano związek o wzorze sumarycznym C₁₆H₂₀BrN (bromantan) występującego w postaci jonów [M+H]⁺ przy ok. 306 m/z. Widmo fragmentacyjne APCI-MS/MS potwierdza występowanie jonów fragmentacyjnych przy ok. 135 m/z, będącego fragmentem tej cząsteczki.



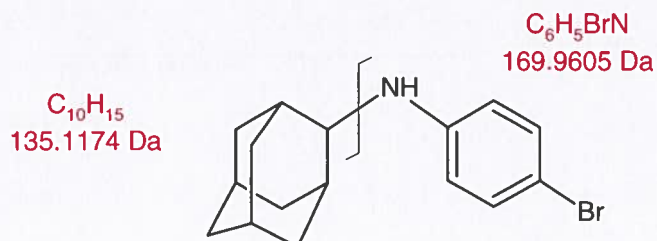
Łukasiewicz
PORT
Polski Ośrodek
Rozwoju
Technologii

SPRAWOZDANIE Z BADAŃ
NR Spy-Lab-2023-051
Z 2023-06-01

Strona: 7 z 11

Egzemplarz nr 2

Proponowany wzór strukturalny związku:



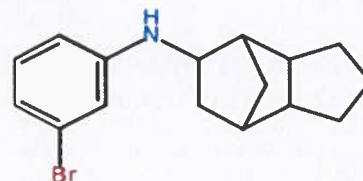
Molecular Formula: $C_{16}H_{20}BrN$

$[M+H]^+$: 306.085181 Da

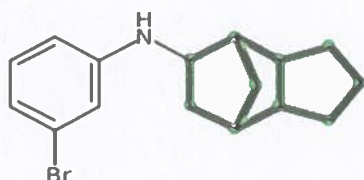
Porównanie uzyskanego widma APCI-MS/MS z dostępną bazą widm fragmentacyjnych (PubChem) potwierdziło zgodność widm fragmentacyjnych.

Identifier	98285650
SMILES	<chem>C1CC2C(C1)C3CC2CC3NC4=CC(=CC=C4)Br</chem>
MonoisotopicMass	305.078
InChI	InChI=1S/C16H20BrN/c17-11-3-1-4-12(9-11)/18-16-8-10-7-15(16)/14-6-2-5-13(10)/14/h1,3-4,9-10,13-16,18H,2,5-8H2/t10-,13+,14-,15+,16+/m0/s1
MetFrag	61.84729731552985
CompoundName	NA
MolecularFormula	$C_{16}H_{20}BrN$
Identifier	98285650

Precursor



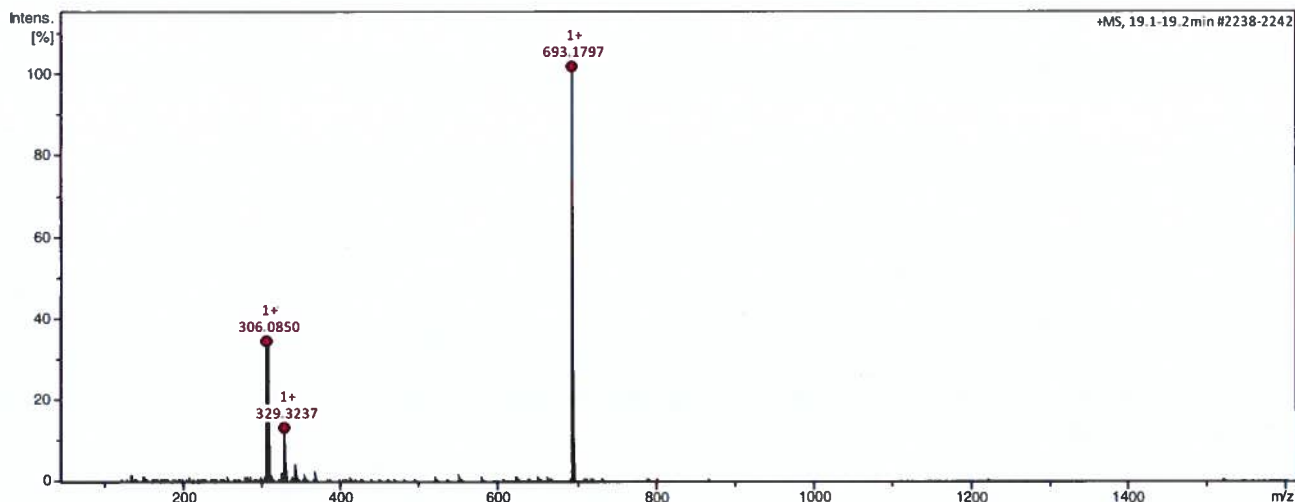
Fragments



Fragment 1

Formula	$[C_{10}H_{15}]^+$
Mass	135.1169
Peak m/z	135.1183

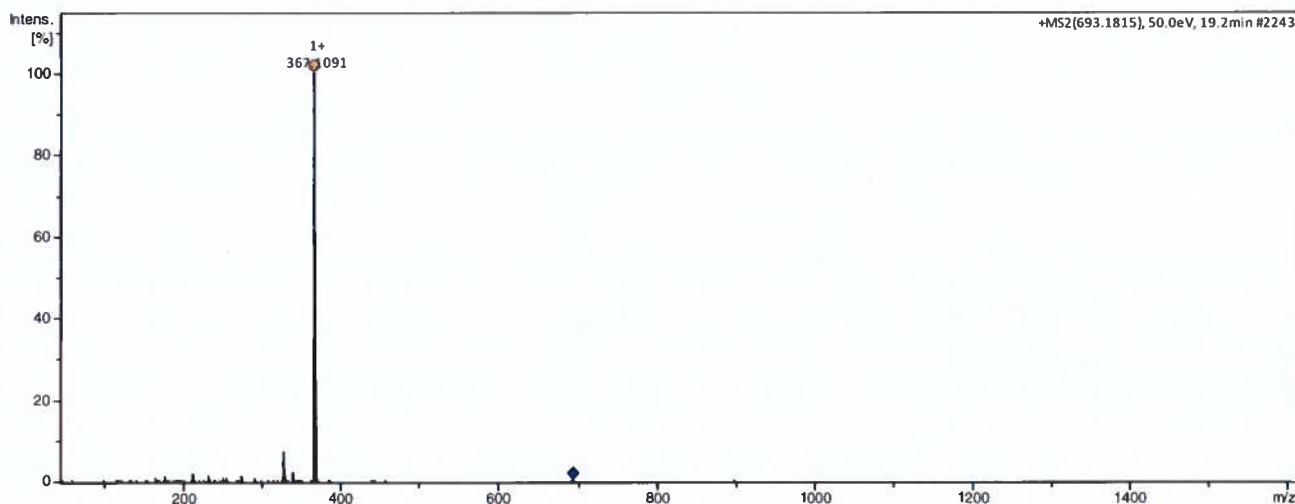
Widmo APCI-MS piklu o czasie retencji ok. 19,1 min próbki bromantan (23-2034B) w trybie jonów dodatnich



Wyznaczone wzory sumaryczne jonów:

Meas. m/z	#	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma	# Sigma	Score	rdb	e— Conf	N-Rule
306.0850	1	C16H21BrN	306.0852	0.5	25.3	1	100.00	6.5	even	ok
329.3237	1	C24H41	329.3203	10.3	17.0	1	100.00	4.5	even	ok
	2	C22H42Na	329.3179	17.6	25.8	1	100.00	1.5	even	ok
693.1797	1	C35H33O15	693.1814	-2.5	15.8	14	100.00	19.5	even	ok
	2	C33H34NaO15	693.1790	1.0	27.1	23	100.00	16.5	even	ok

Widmo APCI-MS/MS piklu o czasie retencji ok. 19,1 min dla jonu przy ok. 693 m/z próbki bromantan (23-2034B) w trybie jonów dodatnich

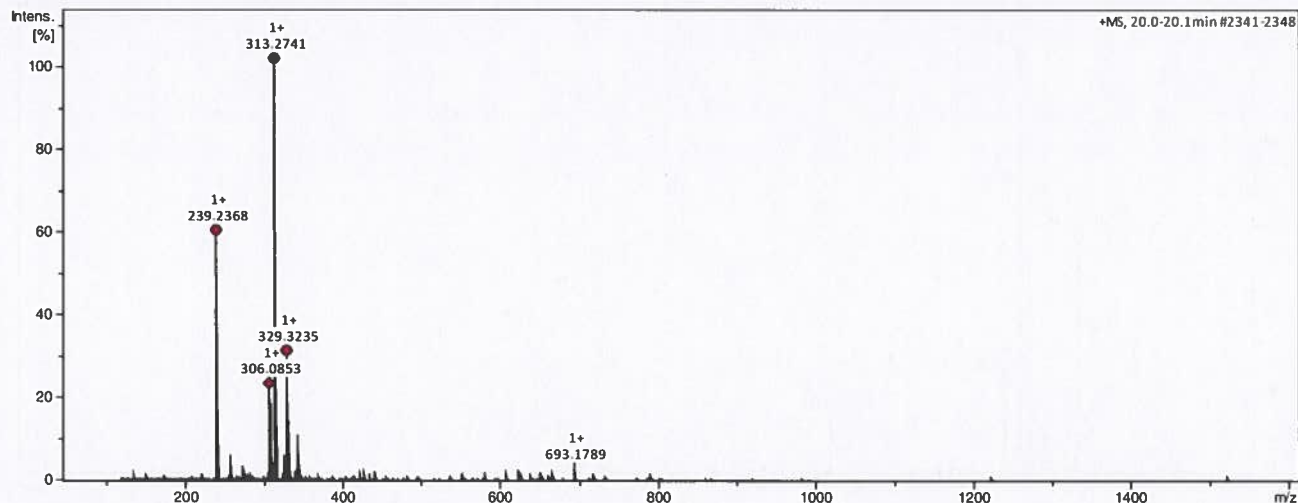


Wyznaczone wzory sumaryczne fragmentów:

Meas. m/z	#	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma	# Sigma	Score	rdb	e— Conf	N-Rule
367.1091	1	C28H15O	367.1117	-7.3	28.3	12	100.00	21.5	even	ok
	2	C26H16NaO	367.1093	-0.7	17.7	7	100.00	18.5	even	ok

Analiza uzyskanych widm MS i MS/MS dla piklu o czasie retencji ok. 19,1 min nie pozwoliła na wysymulowanie wzoru sumarycznego głównego jonu przy ok. 693 m/z.

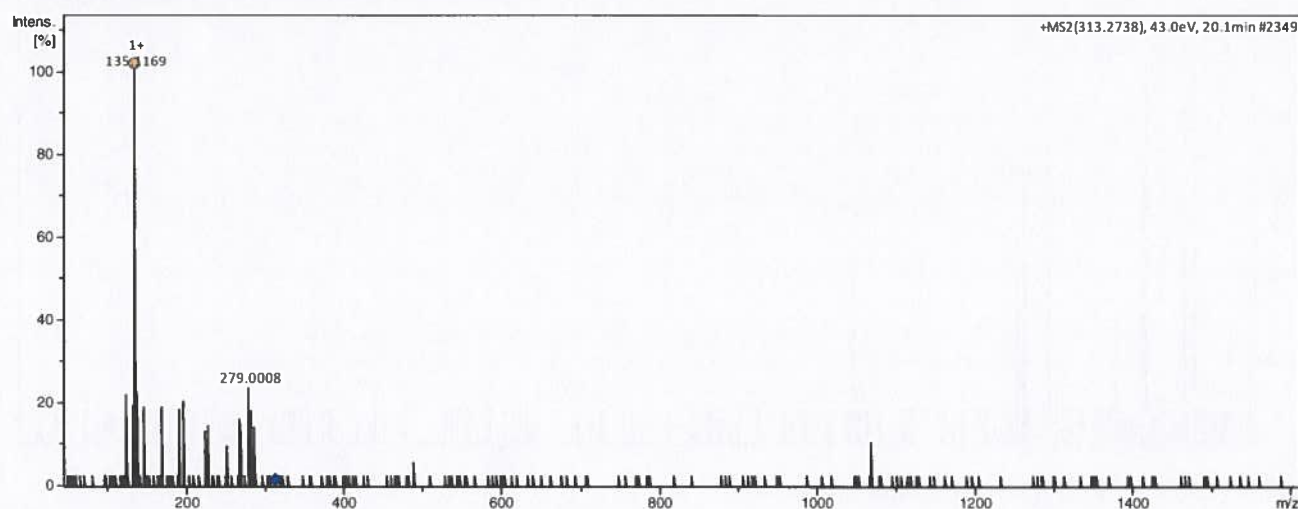
Widmo APCI-MS piksu o czasie retencji ok. 20,0 min próbki bromantan (23-2034B) w trybie jonów dodatnich



Wyznaczone wzory sumaryczne jonów:

Meas. m/z	#	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma	# Sigma	Score	rdb	e—	Conf	N-Rule
239.2368	1	C16H31O	239.2369	-0.7	3.1	1	100.00	1.5	even	ok	
313.2741	1	C19H37O3	313.2737	1.1	3.7	1	100.00	1.5	even	ok	
329.3235	1	C24H41	329.3203	-9.6	15.0	1	100.00	4.5	even	ok	
	2	C22H42Na	329.3179	-16.9	21.4	1	100.00	1.5	even	ok	

Widmo APCI-MS/MS piksu o czasie retencji ok. 20,0 min jonu przy ok. 313 m/z próbki bromantan (23-2034B) w trybie jonów dodatnich



Wyznaczone wzory sumaryczne fragmentów:

Meas. m/z	#	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma	# Sigma	Score	rdb	e—	Conf	N-Rule
135.1169	1	C10H15	135.1168	0.4	56.1	1	100.00	3.5	even	ok	

Analiza uzyskanych widm MS i MS/MS dla piksu o czasie retencji ok. 20,0 min nie pozwoliła na identyfikację związku przy ok. 313 m/z.



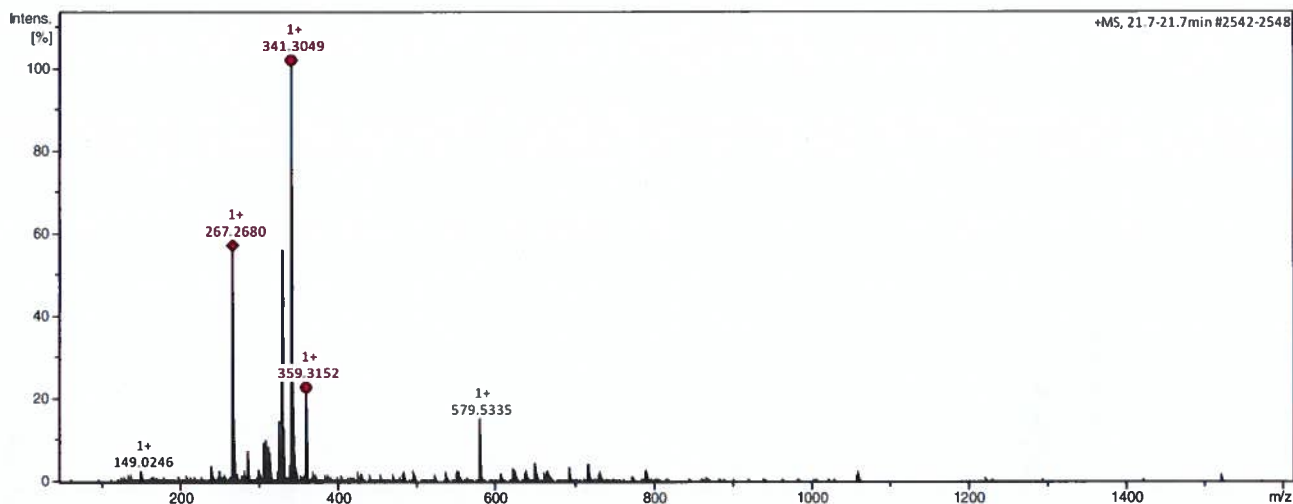
Łukasiewicz
PORT
Polski Ośrodek
Rozwoju
Technologii

SPRAWOZDANIE Z BADAŃ
NR Spy-Lab-2023-051
Z 2023-06-01

Strona: 10 z 11

Exemplarz nr 2

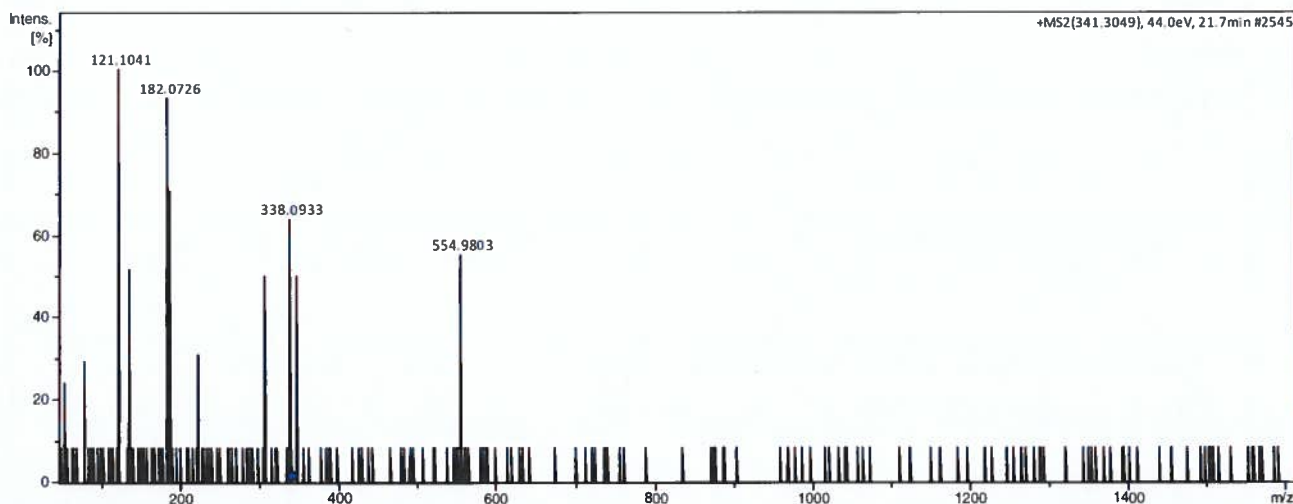
Widmo APCI-MS pików o czasie retencji ok. 21,7 min próbki bromantan (23-2034B) w trybie jonów dodatnich



Wyznaczone wzory sumaryczne jonów:

Meas. m/z	#	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma	#	Sigma	Score	rdB	e—	Conf	N-Rule
341.3049	1	C ₂₁ H ₄₁ O ₃	341.3050	-0.4	18.7	2		100.00	1.5	even	ok	
359.3152	1	C ₂₁ H ₄₃ O ₄	359.3156	1.1	10.4	2		100.00	0.5	even	ok	

Widmo APCI-MS/MS pików o czasie retencji ok. 21,7 min jonu przy ok. 341 m/z próbki bromantan (23-2034B) w trybie jonów dodatnich



Wyznaczone wzory sumaryczne fragmentów:

brak (niska intensywność widma MS/MS)

Analiza uzyskanych widm MS i MS/MS dla pików o czasie retencji ok. 21,7 min nie pozwoliła na identyfikację związku przy ok. 341 m/z.

SPRAWOZDANIE Z BADAŃ
NR Spy-Lab-2023-051
Z 2023-06-01

Strona: 11 z 11

Egzemplarz nr 2

VIII. Autoryzacja

Badanie wykonał***	Imię i nazwisko	Anna Czajkowska
	Stanowisko	Główny Specjalista – Starszy Inżynier Badań
Wyniki autoryzował	Imię i nazwisko	Anna Czajkowska
	Stanowisko	Główny Specjalista – Starszy Inżynier Badań
	Data i podpis	2023-06-01 <i>Czajkowska</i>

* w przypadku badań wykonywanych przez kilka laboratoriów lub autoryzowanych przez różne osoby należy powielić następujące sekcje: V. Realizacja i wyniki badań; VI. Wyniki; VII. Dodatkowe informacje; VIII. Autoryzacja.

** oznaczenia metod i wyników: **(A)** – badanie akredytowane z Zakresu Akredytacji PCA AB 1661, **(N)** – badanie nieakredytowane, **(P-AB...)** – badanie akredytowane w Zakresie Akredytacji zewnętrznego laboratorium dostarczającego usługi, gdzie AB... oznacza numer akredytacji zleceńbiorky, który należy wpisać w wykropkowane miejsce; **(W)** – badanie nieakredytowane wykonane przez zewnętrznego podwykonawcę.

*** w razie potrzeby powielić wiersz „Badanie wykonał”.

Laboratorium nie ponosi odpowiedzialności za pobranie i transport obiektów do badań, jeśli zostały pobrane i dostarczone przez Klienta. Wyniki badań nie uwzględniają etapu pobierania obiektów do badań. Wyniki badań, stwierdzenia zgodności/niezgodności odnoszą się wyłącznie do otrzymanego obiektu do badań (próbki).

Sprawozdanie bez pisemnej zgody laboratorium nie może być powielane inaczej, jak tylko w całości. Laboratorium ponosi odpowiedzialność za wszystkie informacje w Sprawozdaniu z badań, za wyjątkiem informacji dostarczonych przez Klienta. Termin zgłaszania skarg nie może przekraczać 2 tygodni od daty wysłania Sprawozdania z badań. Skargi można kierować na adres: jakosc@port.lukasiewicz.gov.pl.

Sprawozdanie sporządzono w 2 jednobrzmiących egzemplarzach:

Egzemplarz nr 1 – dla Laboratorium

Egzemplarz nr 2 – dla Klienta

	Stanowisko	Imię i nazwisko	Data i podpis
Sporządził	Główny Specjalista – Starszy Inżynier Badań	Anna Czajkowska	2023-06-01 <i>Czajkowska</i>
Zatwierdził	Starszy Specjalista ds. Koordynacji Laboratoriów	Marta Małycha	01.06.2023 <i>M. Małycha</i>

KONIEC SPRAWOZDANIA Z BADAŃ

