

Schema 6. a)  $\text{OsO}_4$  (kat.),  $h\nu$ ,  $\text{Ba}(\text{ClO}_4)_2$  (0.22 M); b)  $\text{Ac}_2\text{O}$ ,  $\text{Et}_3\text{N}$ , DMAP; 19 0.6%, 20 3.4%, 21 2.6%.

benzol mit *Pseudomonas putida* gebildet wird, beträgt das Verhältnis von **21a**:**21b** 1.1:1.0<sup>[3c]</sup>.

Angesichts der großen Zahl von (kinetisch) diskreten photochemischen und thermischen Schritten, die an der Bildung und oxidativen Hydrolyse von regio- und stereoisomeren Osmat-estern in jeder einzelnen Reaktionssequenz beteiligt sind, überrascht es nicht festzustellen, daß Temperatur, relative Konzentrationen der Reaktanten und Reagentien sowie Bestrahlungs-dauer und -intensität die Natur und das Verhältnis der isolierten Produkte beeinflussen. Obwohl wir noch keine systematische Optimierung durchgeführt haben, deuten die vorliegenden Ergebnisse an, daß die kontrollierte katalytische vicinale Di-hydroxylierung von Benzol und einfachen Arenen zu nützlichen, funktionalisierten Inositol- und Condurit-derivaten führt, ohne dabei den carbocyclischen Ring zu spalten.

### Experimentelles

**6, 8, 9, 10:** Zu 10 mL entionisiertem Wasser in einem mit Teflonstopfen verschlossenen 25-mL-Florentiner-Pyrexkolben wurden 3.53 g  $\text{Ba}(\text{ClO}_4)_2$ , 15 mL Benzol und 25 mg (0.1 mmol) in 0.25 mL  $\text{CCl}_4$  gegeben. Das Zweiphasensystem wurde kräftig gerührt und mit einer 400 W-Mitteldruck-Hg-Lampe 43 h bestrahlt. Danach wurde die Lösung auf 0 °C gekühlt und mit 15 g  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  reduziert, 2 h gerührt und unter verminderter Druck zur Trockne eingeengt. Die getrockneten Salze wurden fein zerrieben, mit 70 mL  $\text{Et}_3\text{N}$ , 20 mL  $\text{Ac}_2\text{O}$  und katalytischen Mengen 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) versetzt und die Mischung 3 h auf 70 °C erhitzt. Nach Abkühlung der Reaktionsmischung auf 0 °C wurden 100 mL Wasser zugegeben; es wurde durch Celite gefiltert und dreimal mit je 100 mL Ether extrahiert. Nach Waschen des Extraktes mit 100 mL gesättigter NaCl-Lösung, Trocknen über  $\text{MgSO}_4$  und Konzentrieren bei verminderter Druck wurde ein gelbes Öl erhalten, das beim Stehen kristallisierte. Säulenchromatographie ( $\text{SiO}_2$ , 70 % Ether in Petrolether) ergab, in der Reihenfolge ihrer Eluierung, **8** und **9** als 1:1-Mischung (0.495 g, 1.21 mmol), **10** (0.121 g, 0.30 mmol) und **6** (1.120 g, 2.59 mmol). **8** wurde von **9** durch HPLC ( $\text{SiO}_2$ , 25 %  $\text{EtOAc}$  in Hexan) getrennt.

**6:**  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 55 °C,  $\text{CHCl}_3$ ):  $\delta = 2.05$  (bs, 18 H; 6  $\times$   $\text{CH}_3$ ), 5.30 (m, 2 H; H-3, 6), 5.44 (m, 4 H, H-1, 2, 4, 5);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz):  $\delta = 20.5$ –20.6 (6  $\times$   $\text{CH}_3$ ), 67.4–67.7 (6  $\times$  CH), 169.2, 169.3, 169.5 (6  $\times$  OCOME); MS (70 eV,  $\text{NH}_3$ ):  $m/z$  (%): 450 [M + NH] $_4^+$ ; korrekte Elementaranalyse; Schmp. 140–141 °C (Methanol) (Lit. [10]: 138–139 °C).

**8:**  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , RT,  $\text{CHCl}_3$ ):  $\delta = 2.00$ , 2.07, 2.11, 2.17, 2.20 (5  $\times$  s, 15 H; 5  $\times$   $\text{CH}_3$ ), 4.15 (t,  $^3J(\text{H},\text{H}) = 10.9$ , 10.9 Hz, 1 H; H-3), 5.21 (dd,  $^3J(\text{H},\text{H}) = 10.3$ , 2.8 Hz, 1 H; H-5), 5.31 (dd,  $^3J(\text{H},\text{H}) = 11.0$ , 2.7 Hz, 1 H; H-2), 5.36 (m,  $^3J(\text{H},\text{H}) = 2.9$ , 5.6 Hz, 2 H; H-1, 6), 5.49 (dd,  $^3J(\text{H},\text{H}) = 10.3$ , 10.3 Hz, 1 H; H-4);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz):  $\delta = 20.4$ , 20.5, 20.5, 20.6, 20.7 (5  $\times$   $\text{CH}_3$ ), 57.4 (CH; C-3), 67.1, 67.5, 69.3, 70.5, 70.8 (5  $\times$  CH), 168.7, 169.0, 169.3, 169.3, 169.7 (5  $\times$  OCOME); MS (70 eV,  $\text{NH}_3$ ):  $m/z$  (%): 428 (34.8), 426 (100) [M + NH] $_4^+$ ; korrekte Elementaranalyse; Schmp. 146–147 °C (Ethanol) (Lit. [14]: 144 °C).

**9:**  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , RT,  $\text{CHCl}_3$ ):  $\delta = 2.00$  (s, 6 H; 2  $\times$   $\text{CH}_3$ ), 2.07, 2.16, 2.20 (3  $\times$  s, 9 H; 3  $\times$   $\text{CH}_3$ ), 4.34 (dd,  $^3J(\text{H},\text{H}) = 11.1$ , 3.0 Hz, 1 H; H-6), 5.23 (dd,  $^3J(\text{H},\text{H}) = 11.0$ , 3.0 Hz, 1 H; H-4), 5.32 (dd,  $^3J(\text{H},\text{H}) = 11.2$ , 2.8 Hz, 1 H; H-1), 5.34 (dd,  $^3J(\text{H},\text{H}) = 11.2$ , 3.0 Hz, 1 H; H-3), 5.65 (dd,  $^3J(\text{H},\text{H}) = 3.0$ , 3.0 Hz, 1 H; H-2), 5.72 (dd,  $^3J(\text{H},\text{H}) = 3.0$ , 2.9 Hz, 1 H; H-5);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz):  $\delta = 20.4$ , 20.5, 20.6 (5  $\times$   $\text{CH}_3$ ), 54.7 (CH; C-6), 67.0, 68.4, 68.6, 69.4, 69.5 (5  $\times$  CH), 169.3, 169.4, 169.6, 169.7, 169.9 (5  $\times$  OCOME); MS (70 eV,  $\text{NH}_3$ ):  $m/z$  (%): 428 (34.7), 426 (100) [M + NH] $_4^+$ ; korrekte Elementaranalyse; Schmp. 137–139 °C (Ethanol).

**10:**  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , RT,  $\text{CHCl}_3$ ):  $\delta = 2.08$  (s, 6 H; 2  $\times$   $\text{CH}_3$ ), 2.10 (s, 6 H; 2  $\times$   $\text{CH}_3$ ), 2.12 (s, 3 H;  $\text{CH}_3$ ), 4.36 (dd,  $^3J(\text{H},\text{H}) = 11.1$ , 3.0 Hz, 1 H; H-6), 5.37 (m, 5 H; H-1, 2, 3, 4, 5);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, 55 °C):  $\delta = 20.4$  (4  $\times$   $\text{CH}_3$ ), 20.6 (CH<sub>3</sub>), 54.0 (CH; C-6), 67.7 (CH; C-3), 68.3 (2  $\times$  CH; C-1, 5), 71.1 (2  $\times$  CH; C-2, 4), 169.0–169.2 (5  $\times$  OCOME); MS (70 eV,  $\text{NH}_3$ ):  $m/z$  (%): 428 (33.1), 426 (92.4) [M + NH] $_4^+$ ; korrekte Elementaranalyse; Schmp. 170–171 °C (Ethanol) (Lit. [15]: 185 °C (2-Propanol)).

Eingegangen am 16. Mai 1995 [Z 7991]

**Stichworte:** Aren-Oxidation · Charge-Transfer · Condurite · Inositol · Osmolyierung

- [1] D. T. Gibson, I. R. Koch, R. E. Kallio, *Biochemistry* **1968**, *7*, 2653.
- [2] a) S. V. Ley, F. Sternfeld, S. Taylor, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 225; b) S. V. Ley, F. Sternfeld, *ibid.* **1988**, *29*, 5305; c) S. V. Ley, A. J. Redgrave, *Synlett* **1990**, 393.
- [3] a) H. A. J. Carless, O. Z. Oak, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 1719; b) H. A. J. Carless, K. Busia, *ibid.* **1990**, *31*, 1617; c) H. A. J. Carless, K. Busia, Y. Dove, S. S. Malik, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1993**, 2505.
- [4] a) T. Hudlicky, M. Mandel, J. Rouden, R. S. Lee, B. Bachmann, T. Dudding, K. J. Yost, J. S. Merola, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1994**, 1553; b) T. Hudlicky, J. Rouden, H. Luna, S. Allen, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 5099; c) T. Hudlicky, H. F. Olivo, B. McKibben, *ibid.* **1994**, *116*, 5108.
- [5] J. M. Wallis, J. K. Kochi, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 1679; *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 8207.
- [6] P. R. Hammond, R. R. Lake, *J. Chem. Soc. (A)* **1971**, 3819.
- [7] K. A. Hoffmann, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1912**, *45*, 3329.
- [8] Die Ausbeuteangaben basieren auf eingesetztem Startmaterial.
- [9] Zur Synthese von (+)- und (-)-Condurite siehe S. Takano, T. Yoshimitsu, K. Ogasawara, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 54; Z.-M. Wang, K. Kakiuchi, K. B. Sharpless, *ibid.* **1994**, *59*, 6895.
- [10] T. Tschamber, F. Backenstrass, H. Fritz, J. Streith, *Helv. Chim. Acta* **1992**, *75*, 1052.
- [11] Röntgenstrukturanalysen: W. B. Motherwell et al., unveröffentlicht.
- [12] W. H. Hartford, M. Darin, *Chem. Rev.* **1958**, *58*, 1.
- [13] Zur Selektivitätsanalyse siehe H. C. Kolb, M. S. Van Nieuwenhze, K. B. Sharpless, *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 2483.
- [14] G. E. McCasland, *Adv. Carbohydr. Chem.* **1965**, *20*, 24.
- [15] G. E. McCasland, S. Furuta, V. Bartuska, *J. Org. Chem.* **1963**, *28*, 2096.

### Micellen in der Gasphase\*\*

Gary Siuzdak\* und Brian Bothner

Micellen aus Tensiden sind primitive Vesikel, wie sie mit dem Ursprung des Lebens in Zusammenhang gebracht werden. Ihre Bildung ging der Entwicklung biochemischer Wechselwirkungen, der Membranbildung und dem Beginn der Zellentwicklung voraus. Micellen werden – in Anlehnung an ihre Funktionen in der frühzeitlichen Ursuppe – in der Biochemie intensiv genutzt, um den Transport hydrophoben Materials zu vereinfachen und chemische Reaktionen durchzuführen. Sie werden mit den verschiedensten Methoden untersucht, z.B. mit Gelpermationschromatographie<sup>[11]</sup>, durch Lichtstreuung<sup>[12]</sup> und durch Messung der Grenzflächenspannung<sup>[13, 4]</sup>. Wir nutzten nun die „Pneumatically - Assisted - Electrospray“ (Ionenspray) - Ionisierung (ESI), um den Transfer von Micellen aus der kondensierten Phase in die Gasphase zu erreichen. Frühere Studien mit der Electrospray-Technik<sup>[15]</sup> an Glycolipiden führten zum Nachweis von  $\text{Ca}^{2+}$ -abhängigen Glycolipiddimeren, mit dem Hinweis darauf, daß die Bildung dieser Dimere zum Teil auf der nicht-kovalenten Spaltung von Glycolipidmicellen beruhte. Wir wollen nun intakte Micellenmassen spektrometrisch nachweisen.

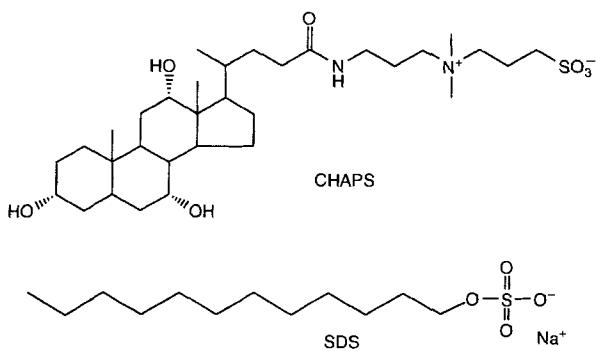
Die Electrospray-Technik ermöglicht den Transfer geladener Moleküle aus einer flüssigen in die Gasphase, indem ein feiner Sprühnebel hochgeladener Tröpfchen erzeugt wird. Die Probenlösung wird von der Spitze einer Metallspritze, die auf ca. 5000 V gehalten wird, versprüht. Bevor die Tröpfchen in das

[\*] Dr. G. Siuzdak, B. Bothner  
Department of Chemistry  
The Scripps Research Institute  
La Jolla, CA 92037 (USA)  
Telefax: Int. + 619/554-6687

[\*\*] Die Autoren danken Drs. Klaus Huber, Robert S. Cantor und Joseph F. Krebs für hilfreiche Anregungen bei der Erstellung des Manuskripts sowie dem Lucille P. Markey Charitable Trust und den National Institutes of Health (Förder-Nr. 1 S10 RR07273-01) für finanzielle Unterstützung.

Vakuum des Massenspektrometers gelangen, wird ihnen trockenes Gas zugeführt, so daß das Lösungsmittel der Tröpfchen verdampft. In dem Maße, in dem sich die Größe eines jeden Tröpfchens verringert, nimmt die Stärke des elektrischen Feldes an seiner Oberfläche zu. Die gegenseitige Abstoßung gleicher Ladungen auf der Oberfläche wird so groß, daß sie die Kräfte der Oberflächenspannung überschreitet und das Ausstoßen von Ionen aus dem Tröpfchen bewirkt. Die Ionen werden dann durch elektrostatische Linsen zum Massenanalysator geleitet. Diese Art der Ionisierung ist für die Bildung hochgeladener Moleküle und nicht kovalent gebundener Molekülkomplexe<sup>[6-9]</sup> geeignet.

Wir konzentrieren uns bei dieser Studie auf CHAPS (3-[*(3-Cholamidopropyl)dimethylammonio]-1-propansulfonat) und Natriumdodecylsulfat (SDS). Die Tenside Natriumoctylsulfat,*



Octylamin, Dodecylamin, Natriumaurocholat, Natriumaurodesoxycholat und Cholsäure wurden ebenfalls untersucht. Die Experimente wurden mit einem API-III-Perkin-Elmer-Sciex-Dreifach-Quadrupol-Massenspektrometer mit einer oberen *m/z*-Grenze von 2400 durchgeführt, das für den Nachweis positiver wie für den negativer Ionen geeignet ist. Für die Probenzuführung wurde die Electrospray-Einheit mit einem Potential von 5.0 kV eingesetzt. Das Declustering-Potential (entspricht etwa einem Ionenfreisetzungspotential) wurde zwischen 30 und 250 V variiert, um die Stoßenergie an der Öffnung zu verändern. Die mit Konzentrationen von 0.01–100 mM und mit einer Geschwindigkeit von 3.0  $\mu\text{L min}^{-1}$  zugeführten Proben waren entweder in Wasser oder in Methanol/Chloroform (50/50) gelöst. Sowohl positive als auch negative Ionen wurden in diesen Experimenten analysiert und ergaben übereinstimmende Ergebnisse, allerdings lieferten die positiven Ionen im allgemeinen intensivere Signale.

Da es sich bei der ESI um einen Verdampfungsvorgang handelt, ist es wichtig, die Probenkonzentration zu minimieren und so die Effektivität der Verdampfung zu maximieren, damit ein intensives Ionensignal gewährleistet ist. Um die Ionisierung zu begünstigen, wurde die Konzentration der Tenside (1.04 mM) unterhalb der kritischen Micellbildungskonzentration (cmc) gehalten (6–10 mM für CHAPS und 7–10 mM für SDS)<sup>[10]</sup>. Da das Entfernen des Lösungsmittels langsamer<sup>[11]</sup> erfolgt als die Micellenbildung<sup>[12]</sup>, kann ohne weiteres angenommen werden, daß vor dem Ionenaustritt der cmc-Wert erreicht und Micellen gebildet wurden. Die Micellenbildung im Tröpfchen ist wahrscheinlich, weil die Konzentration der gelösten Komponenten in ihm um den Faktor Hundert zunimmt<sup>[11]</sup>, bevor ein Ion austritt.

Die Beobachtung von Micellen mit Hilfe der Massenspektrometrie kann durch mehrere Faktoren beeinflußt werden: 1) die Größe der Micelle, 2) die Stabilität der geladenen Micelle in der Gasphase und 3) die Bedingungen während der Verdampfung

der Tröpfchen (Temperatur- und Druckschwankungen). Der erste Faktor wurde berücksichtigt, indem mehrere große und kleine Micellensysteme verwendet wurden. Eine wichtige Eigenschaft von Massenspektrometern ist, daß das Verhältnis von Masse zu Ladung (*m/z*) bestimmt wird, was die Beobachtung sehr großer Moleküle oder Molekülkomplexe mit Instrumenten ermöglicht, die nur einen kleinen *m/z*-Meßbereich haben, sofern die Teilchen mehrfach geladen sind. Micellen haben typischerweise Gegenionen an den Kopfgruppen, um die dort herrschende Abstoßung zu minimieren. Ein Entfernen oder Hinzufügen von Gegenionen (z.B.  $\text{H}^+$ ,  $\text{Na}^+$  oder  $\text{Cl}^-$ ) ist aber für die Massenspektrometrie notwendig, um geladene Spezies zu erzeugen, was zu einer Destabilisierung und zur Fragmentierung der Micelle führen kann. Größere Micellen erfordern viele Ladungen, damit sie beobachtet werden können, und könnten durch die zahlreichen Ladungen destabilisiert werden. Der zweite Faktor wurde durch die Wahl der Tenside berücksichtigt, von denen einige in der Lage sein sollten, intramicelläre Wasserstoffbrückenbindungen zu bilden. Die Triebkraft für die Micellenbildung in Lösung liegt in einem Anstieg der Lösungsmitteltropie. Deswegen ist es wichtig, daß die Moleküle, die die Micellen bilden, starke intramicelläre Bindungen aufweisen, um die Struktur in der Gasphase zu bewahren. Schließlich könnte sich auch die Tatsache, daß die Tröpfchenbildung nicht genau gesteuert werden kann (Faktor 3), nachteilig auf die Micellenbildung auswirken. Um daraus resultierende Fluktuationen zu minimieren, wurden die Experimente unter identischen Bedingungen durchgeführt.

Die Tenside CHAPS, Natriumaurocholat, Natriumaurodesoxycholat und Cholsäure wurden ausgewählt, weil sie relativ niedrige Aggregationszahlen haben und intermolekulare Bindungsstellen aufweisen<sup>[13]</sup>, die eine Assoziation in der Gasphase stabilisieren könnten. Die Electrospray-Ionisierung ermöglicht eine Einstellung der kinetischen Energie des Ions mit Hilfe des Declustering-Potentials derart, daß Potentiale im Bereich von 70 V und niedriger für die Beobachtung von Komplexen, die nicht durch kovalente Bindungen zusammengehalten werden, geeignet sind, während höhere Potentiale normalerweise die Dissoziation derartiger Komplexe und sogar die kovalenter Bindungen begünstigen. Alle Experimente, in denen Micellen beobachtet wurden, wurden bei niedrigen Declustering-Potentialen durchgeführt, typischerweise  $\leq 50$  V. Abbildung 1 zeigt die Massenspektren von CHAPS bei Declustering-Potentialen von 50 und 150 V. Das Spektrum bei 50 V enthält Oligomere, die mit der erwarteten Aggregationszahl der Micelle (4–14)<sup>[10]</sup> in Einklang sind. Die Experimente bei einem Declustering-Potential von 150 V ergaben keinen Hinweis auf eine Micellenbildung. Ähnliche Ergebnisse wurden auch bei Natriumaurocholat und Natriumaurodesoxycholat erhalten, dagegen lieferte Cholsäure auch bei 50 V keinen Hinweis auf eine Micellenbildung. Diese Befunde sprechen dafür, daß der Zwitterion-Charakter von CHAPS, Natriumaurodesoxycholat und Natriumaurocholat sowie die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen ihren Monomeren die Beobachtung der Micellen in der Gasphase durch Stabilisierung der geladenen (Micellen-)Struktur begünstigen. Die drei Verbindungen bildeten in der Regel Micellen mit mindestens drei Ladungen.

Die gemessenen Ladungszustände wurden auf der Basis von Isotopenmuster, Kationenaddition und MS/MS-Daten bestimmt. Aus den Abständen der Isotopenlinien kann der Ladungszustand abgeleitet werden (Abb. 2), wobei die Auflösung des Quadrupolinstruments die Bestimmung bis zum 3+-Zustand ermöglichte. Die Kationenaddition diente ebenfalls zur Identifizierung der Ladungszustände (Abb. 3): Die Abstände zwischen den Kationenaddukten liefern dieselbe Information

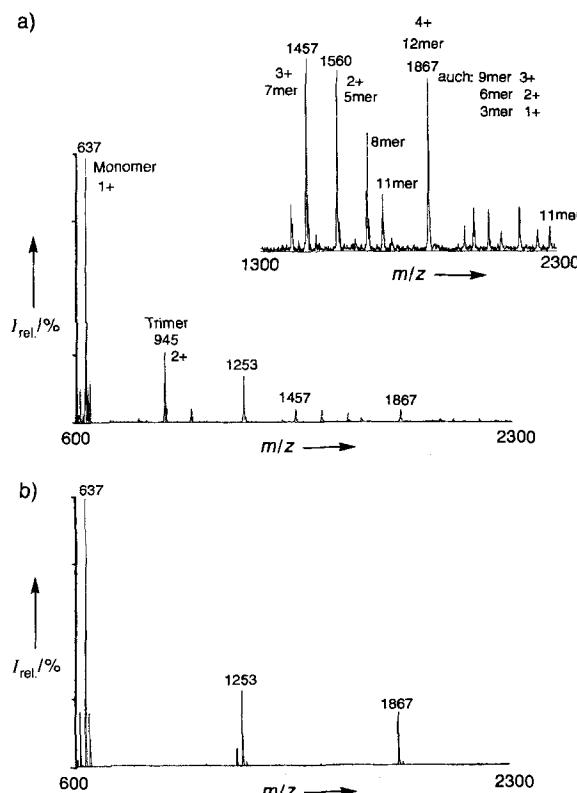


Abb. 1. Positiv-Ionen-Electrospray-Massenspektren von CHAPS-Micellen aus Wasser bei Declustering-Potentialen von 50 V (a) und 150 V (b). Bei 50 V variieren Größe und Ladung der als  $\text{Na}^+$ -Addukte vorliegenden Micellen, z.B. handelt es sich bei dem Ion mit  $m/z$  1457 um  $[(\text{CHAPS})_7 + 3\text{Na}]^{3+}$ . Bei 150 V werden nur einfach geladenes Monomer, Dimer und Trimer beobachtet. Die Ladungszustände wurden aus der Isotopenverteilung, der Kationenaddition und MS/MS-Daten abgeleitet.

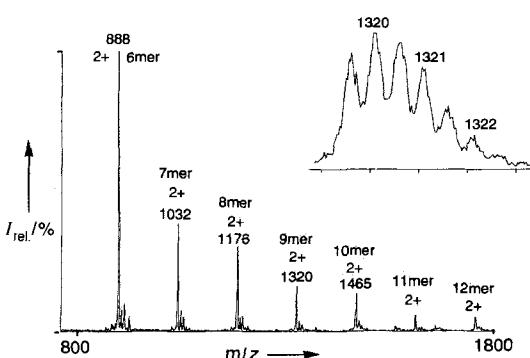


Abb. 2. Aggregate  $[(\text{SDS})_n + 2\text{Na}]^{2+}$  mit  $n = 6–12$ , mit Positiv-Ionen Electrospray-Massenspektrometrie detektiert. Die Ladungszustände können aus den Abständen der Isotopenlinien abgeleitet werden. So entsprechen  $^{13}\text{C}$ -Isotopenabstände von 1.0 Masseneinheiten dem Ladungszustand 1+, und Abstände von 0.5 Masseneinheiten sind dem Ladungszustand 2+ zuzuordnen etc. Dieses Spektrum zeigt den gleichmäßigen stufenweisen Aufbau, der für Salzaggregate und unspezifische Molekülaggregate typisch ist.

wie das Isotopenmuster, ohne daß eine hohe Auflösung nötig ist. Kationenaddition wurde auch angewendet, um den Einfluß des Kations auf die Beobachtbarkeit der Micellenbildung zu prüfen. Dabei wurde  $\text{Na}$  durch andere Alkalimetalle,  $\text{Li}$ ,  $\text{K}$  und  $\text{Cs}$ , ersetzt, was nicht zu signifikanten Änderungen in den Ladungszuständen oder Ionenintensitäten führte. Die MS/MS-Daten lieferten Informationen über die Ladungszustände, da Fragment-Ionen auf die minimale Aggregationszahl schließen lassen.

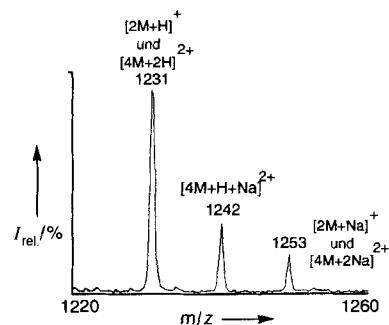


Abb. 3. Massenspektrum von CHAPS bei einem Declustering-Potential von 75 V. Für die Bestimmung des Ladungszustands eines Ions aus der Kationenaddition gilt: Die Bildung von Kationenaddukten mit der halben Masse des Ions belegt einen 2+-Zustand, die bei einem Drittel der Ionenmasse einen 3+-Zustand etc.

SDS und andere Alkyltenside wurden ebenfalls untersucht. Um SDS-Micellen (Aggregationszahl 62)<sup>[10]</sup> mit unserer Meßeinrichtung nachweisen zu können, ist eine Ladung von mindestens  $\pm 7$  erforderlich. Bei der massenspektrometrischen Untersuchung von SDS zeigte sich jedoch keine Assoziation, die einer Micellenbildung entspräche (Abb. 2); das Spektrum ähnelt vielmehr Spektren, wie sie von Salzaggrenzen erhalten werden<sup>[14]</sup>. Die gleichen Experimente wurden mit strukturverwandten Tensiden wie Natriumoctylsulfat, Octylamin und Dodecylamin durchgeführt und führten zu ähnlichen Ergebnissen wie die mit SDS: Unabhängig von der Größe der Systeme ließen sich keine Micellen nachweisen. Das Ausbleiben der Beobachtung von Micellen könnte mit einer signifikanten Abstoßung zwischen den Kopfgruppen in den hochgeladenen Micellen zusammenhängen, da nur Ladungen  $\leq +2$  bei den Aggregaten nachgewiesen werden konnten. Theoretischen Überlegungen zufolge dürften Versuche, Micellen mit relativ hoher Aggregationszahl zu beobachten, bedingt durch ihre Instabilität bei hoher Ladung schwierig sein. Außerdem reichen die vergleichsweise schwachen van-der-Waals-Wechselwirkungen dieser Moleküle möglicherweise nicht aus, um Micellen für den Transfer in die Gasphase ausreichend zu stabilisieren.

In Kombination mit dem Declustering-Potential wurde die Tandem-Massenspektrometrie eingesetzt, um die Micellen-Ionen noch genauer zu identifizieren. Um die Fragmentierung zu bewirken, wurde die stoßinduzierte Dissoziation (CID oder MS/MS) eingesetzt. Dabei wird das betreffende Ion mit dem Massenanalysator ausgewählt und in eine Stoßzelle, in der sich typischerweise Argon als Kollisionsgas befindet, eingeleitet. Die durch Kollisionen mit dem Inertgas gebildeten Fragment-Ionen werden von einem zweiten Analysator aufgezeichnet. Die Experimente wurden an den Cholsäurederivaten bei zwei Declustering-Potentialen (50 und 150 V) durchgeführt, um die Micellenbildung bei niedrigen Potentialen weiter zu sichern und um eine minimale Aggregationszahl der beobachteten Ionen zu erhalten. Die Fragmentierungen der Cholsäurederivate bei 50 V lieferten Ionen (Heptamer, Decamer und Undecamer), die mit einem Dodecamer als Vorläufer-Ion in Einklang sind. Abbildung 4 zeigt die Fragmentierungen von CHAPS für beide Declustering-Potentiale. Bei 150 V sind lediglich Monomer und Dimer nachweisbar, was eher mit einem Trimer als Vorläufer-Ion übereinstimmt.

SDS und CHAPS wurden auch in Methanol/Chloroform (50/50) untersucht, einem Lösungsmittelsystem, das die Bildung inverser Micellen begünstigt. Bei SDS ähnelten die Ionenverteilungen unter diesen Bedingungen denen in wässrigem Medium, was ebenfalls darauf hindeutet, daß die bei dieser Verbindung beobachteten Cluster das Ergebnis unspezifischer Aggregation

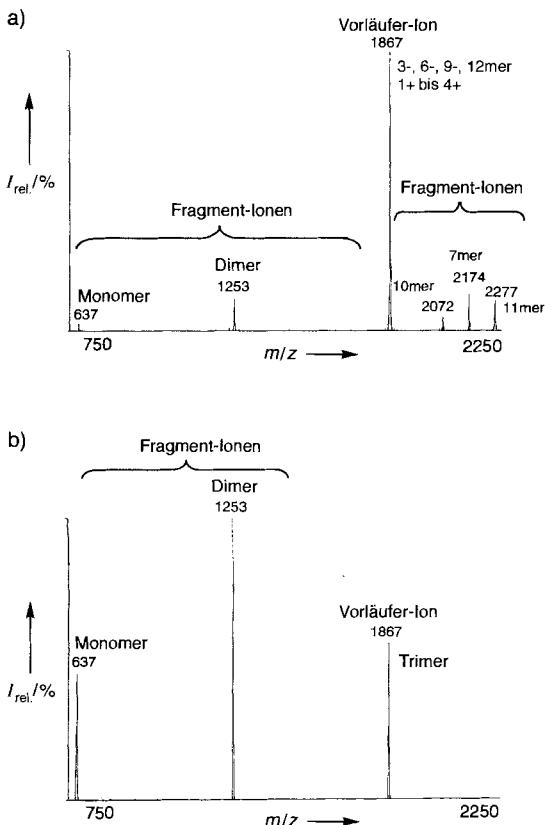


Abb. 4. Positiv-Ionen-Electrospray-MS/MS-Analyse des Ions  $m/z$  1867 bei Declustering-Potentialen von 50 (a) und 150 V (b). Die Daten bei 50 V sind mit folgenden Strukturen für  $m/z$  1867 vereinbar:  $[(CHAPS)_2 + 4\text{Na}]^{4+}$ ,  $[(CHAPS)_3 + 3\text{Na}]^{3+}$ ,  $[(CHAPS)_6 + 2\text{Na}]^{2+}$  und  $[(CHAPS)_9 + \text{Na}]^+$ . Die Daten bei 150 V sprechen für  $[(CHAPS)_3 + \text{Na}]^+$ .

sind. Dagegen lieferte CHAPS eine deutlich andere Ionenverteilung und andere relative Ionenintensitäten als in wässriger Lösung. Dies könnte auf den strukturellen Unterschied zwischen inversen und normalen Micellen zurückzuführen sein.

Einen zusätzlichen Hinweis auf eine Micellenbildung in der Gasphase lieferten Experimente, in denen die kritische Micellenbildungskonzentration verfolgt wurde. Die cmc ist definiert als die Tensidkonzentration, oberhalb der Micellen gebildet werden<sup>[10]</sup>. Die cmc-Werte von CHAPS, Taurocholat und Taurodesoxycholat betragen 6–10, 3–11 bzw. 1–4 mM. Für diese Untersuchungen besonders geeignet waren die von Cholesterin abgeleiteten Tenside, da sie sich wegen ihrer ähnlichen Struktur aller Wahrscheinlichkeit nach auch beim Verdampfen ähnlich verhalten sollten. Wir erhöhten die Konzentration eines jeden Tensids, beginnend bei 0.01 mM, schrittweise um 0.01 mM, um den Beginn der Micellenbildung anhand des Auftretens des Heptamers in den 2+- und 3+-Ladungszuständen zu ermitteln. Das Heptamer wurde gewählt, weil es zu den Aggregationszahlen aller drei Tenside paßt und weil sein Peak nicht mit denen anderer Oligomer-Ionen in den 1+-, 2+- oder 3+-Ladungszuständen überlappt.

Die cmc-Werte von CHAPS, Natriumtaurocholat (TC) und Natriumtaurodesoxycholat (TDC) ergaben sich bei diesen Experimenten zu 0.06, 0.08 bzw. 0.02 mM (Abb. 5, Tabelle 1). Unter der Annahme, daß die Verdampfung zu einem Anstieg der Tensidkonzentration in den Tröpfchen um etwa den Faktor Hundert führt<sup>[11]</sup>, stimmen die Ergebnisse mit den absoluten cmc-Werten der Tenside überein, und sie passen auch zu deren relativen cmc-Werten. Die gleichen Untersuchungen wurden

auch mit SDS (cmc = 7–10 mM) durchgeführt, wobei eine deutliche Aggregation nur bei Konzentrationen oberhalb 0.20 mM auftrat. Als deutliche Aggregation wurde die Beobachtung des Heptamers mit einem Signal/Rausch-Verhältnis >2/1 definiert. Die relativ hohen Konzentrationen von SDS, die notwendig sind, um eine Aggregation zu beobachten, weisen ebenfalls auf eine unspezifische Aggregation hin, während die Übereinstimmungen zwischen den absoluten und relativen cmc-Werten der Steroidtenside für eine Micellenbildung sprechen.

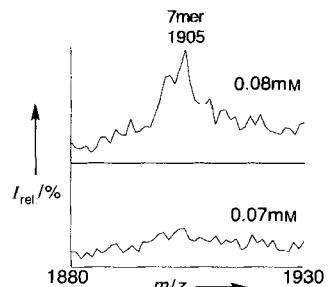


Abb. 5. Beginn der Micellenbildung von Taurocholat, am Auftreten des Signals des Heptamers  $[(\text{TC})_7 + 2\text{Na}]^{2+}$  verfolgt, bei 0.08 mM (oberer Teil des Diagramms). Unten ist das Spektrum von Taurocholat bei 0.07 mM zum Vergleich gezeigt.

Tabelle 1. Vergleich der in Lösung bestimmten cmc-Werte [10] mit den durch ESI bestimmten für die Tenside CHAPS, TC, TDC und SDS.

Tensid	CHAPS	TC	TDC	SDS
cmc (Lösung) [mM]	6–10	3–11	1–4	7–10
cmc (ESI) [mM]	0.06	0.08	0.02	0.20
c [mM] [a]	6	8	2	20

[a] Geschätzte Konzentration des Tensids beim Ionenaustritt.

Der „milde“ Ionisierungs/Verdampfungsprozeß der Electrospray-Technik ermöglichte den Transfer von Micellen in die Gasphase und damit ihre massenspektrometrische Untersuchung. CHAPS, Natriumtaurodesoxycholat und Natriumtaurocholat erwiesen sich – wahrscheinlich weil sie relativ kleine Micellen und stabile mehrfach geladene Komplexe bilden – als geeignete Modellverbindungen<sup>[15]</sup>.

Eingegangen am 10. Januar,  
veränderte Fassung am 29. Juni 1995 [Z 7620]

**Stichworte:** Massenspektrometrie · Micellen

- [1] N. Funasaki, *Adv. Colloid Interface Sci.* **1993**, *43*, 87.
- [2] K. J. Mysels, L. H. Princen, *J. Phys. Chem.* **1959**, *63*, 1696.
- [3] J. B. Chung, P. C. Shanks, R. E. Hanneman, E. I. Franses, *Colloids Surf.* **1990**, *43*, 223.
- [4] M. J. Rosen, *Surfactants and Interfacial Phenomena*, Wiley, New York, 1978.
- [5] G. Siuzdak, Y. Ichikawa, T. J. Caulfield, B. Munoz, C.-H. Wong, K. C. Nicolaou, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 2877.
- [6] J. D. Henion, Y. T. Li, B. Ganem, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 6294.
- [7] V. Katta, B. T. Chait, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 8534.
- [8] R. D. Smith, K. J. Light-Wahl, B. E. Winger, J. A. Loo, *Org. Mass Spectrom.* **1992**, *27*, 811.
- [9] G. Siuzdak, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 11290.
- [10] L. M. Hjelmlund, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1980**, *77*, 6368; J. Neugebauer, *A Guide to the Properties and Uses of Detergents in Biology and Biochemistry*, CALBIOCHEM, CA, 1988.
- [11] P. Kebare, L. Tang, *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 972A.
- [12] S. G. Oh, D. O. Shah, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1993**, *70*, 673.
- [13] J. S. Nowick, T. Cao, G. Noronha, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 3285.
- [14] J. F. Anacleto, S. Pleasance, R. K. Boyd, *Org. Mass Spectrom.* **1992**, *27*, 660.
- [15] G. Siuzdak, *Proc. 42nd Am. Soc. Mass Spectrom. Conf.* **1994**, 909.