

# Organische Reaktionen in Mikrotröpfchen: Analyse von Reaktionsbeschleunigungen durch Massenspektrometrie

Xin Yan, Ryan M. Bain und R. Graham Cooks\*

Ambiente Ionisation · Massenspektrometrie · Mikrotröpfchen · Reaktionskinetik · Spray-Ionisation

Michael Gross zum 75. Geburtstag gewidmet

Die bemerkenswerte Entdeckung, dass eine Reaktionsbeschleunigung in Lösungen mit begrenztem Volumen erfolgt, wirft ein augenscheinliches Rätsel auf. Durch Spray-Ionisation gebildete Mikrotröpfchen können genutzt werden, um den Verlauf von Reaktionen in der Bulkphase zu verfolgen und außerdem Reaktionen zwischen den Reagentien in solch einer Reaktion zu beschleunigen. In diesem Kurzaufsatz werden Beschleunigungsphänomene in Tröpfchen und dünnen Filmen vorgestellt und moderne Methoden, die zur Untersuchung beschleunigter Reaktionen in Lösungen mit begrenztem Volumen und großer Oberfläche angewendet werden, zusammengefasst. Bedingungen, die entweder eine einfache Verfolgung oder eine Beschleunigung bestimmen, werden beim Auftreten von diskontinuierlicher und vollständiger Desolvatisierung als Endpunkt der Tropfenentwicklung abgestimmt. Die gegensätzlichen Merkmale von Reaktionen in Mikrotröpfchen und in Bulklösung werden in Verbindung mit möglichen Mechanismen, nach denen eine Reaktionsbeschleunigung in Mikrotröpfchen erfolgt, beschrieben. Derzeitige Anwendungen von Tröpfchen als Mikroreaktoren werden im Hinblick auf eine Reaktionsbeschleunigung in begrenzten Volumina und ein mögliches zukünftiges Scale-up angeführt.

## 1. Einführung

Die Massenspektrometrie (MS) gewinnt aufgrund ihrer Einsatzmöglichkeiten bei der strukturellen Charakterisierung und ihrer hohen Spezifität, Empfindlichkeit und Geschwindigkeit zunehmend an Interesse.<sup>[1]</sup> Mittels MS können Reaktionsverlauf und Kinetik verfolgt, Katalysatoren einem Screening unterzogen<sup>[2]</sup> und Reaktionsmechanismen durch das Auffangen reaktiver Zwischenprodukte erhellt werden.<sup>[3]</sup> Besondere Erfolge wurden unter Anwendung der Electrospray-Ionisation (ESI) und ihrer Varianten erzielt.<sup>[4]</sup> Unter Zugriff auf Echtzeit-Strukturdaten haben MS-Untersuchungen komplexer Reaktionssysteme wie metallorganische Reaktionen<sup>[3a,n,5]</sup> und Mehrkomponentenreaktionen<sup>[6]</sup> bisher

unbekannte Reaktionswege und mechanistische Details aufgedeckt. So wurde beispielsweise die Hantzsch-Reaktion in Bulklösung mittels ESI-MS verfolgt, um die Reaktionszwischenprodukte zu identifizieren<sup>[6a,7]</sup> und um zu zeigen, dass die Synthese von symmetrischen 1,4-Dihydropyridinen (DHPs) bei vier Möglichkeiten überwiegend dem Diketon-Reaktionsweg folgt.<sup>[6b]</sup> Diese Informationen wurden mittels ESI-MS durch Versprühen einer Fahne geladener Tröpfchen eines aliquoten Teils des Bulkreaktionsgemischs bei Atmosphärendruck erhalten. Unter den in dieser Studie angewendeten Bedingungen wurden die Tröpfchen schnell in den beheizten Einlass eines Massenspektrometers hineingezogen, wo sie rasch desolvatisiert wurden und ionisierte Komponenten freisetzen, die für die Reaktion im Bulkmedium charakteristisch waren. Interessanterweise wurde bei geänderten Reaktionsbedingungen eine beschleunigte Version der Hantzsch-Reaktion in den im Verlauf der Electrospray-Ionisation gebildeten Tröpfchen beobachtet.<sup>[8]</sup> Durch Mischen der Reagentien und anschließende systematische Vergrößerung des Abstandes zwischen dem ESI-Emitter und dem Einlass des Massenspektrometers wurde die für die Desolvatisierung der geladenen Mikrotröpfchen in Luft verfügbare Zeit verlängert, und die mittels MS bei kurzen Abständen verfolgten ionisierten Reagentien wurden wiederum durch Reaktionszwischenprodukte und schließlich durch das Endprodukt abgelöst (Abbildung 1). All diese

[\*] Dr. X. Yan, R. M. Bain, Prof. R. G. Cooks  
Department of Chemistry, Purdue University  
560 Oval Drive, West Lafayette, IN 47907 (USA)  
E-Mail: cooks@purdue.edu

Vorgänge erfolgten auf der Millisekunden-Zeitskala, wobei die Reaktionsgeschwindigkeit in Tröpfchen<sup>[9]</sup> etwa 10<sup>5</sup>-mal höher als in Bulklösung war.<sup>[8,10]</sup> Erwähnenswert ist, dass die Beschleunigung ohne Erwärmung der Tröpfchen erreicht wurde. Die Verwendung eines 1 m langen Rohrs war eine geeignete Methode, um den Übergang von keiner Beschleunigung zu einem großen Beschleunigungsfaktor zu beobachten. Kleinere Ausgangströpfchen, die leicht gebildet werden, bewirken jedoch eine große Beschleunigung über kurze Strecken. Mit diesem Beispiel wird die Frage beleuchtet, weshalb ESI genutzt werden kann, um eine Bulkreaktion zu verfolgen oder um als Ort für eine beschleunigte Reaktion zu dienen.

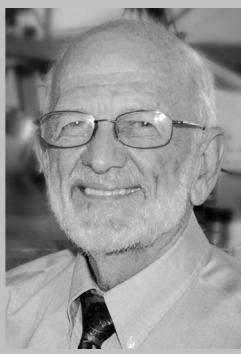
Bemerkenswerterweise können Lösungsphasenreaktionen in Mikrotröpfchen um Zehnerpotenzen schneller ablaufen als die ihnen entsprechenden üblichen Reaktionen in der Bulkphase, wie das obige Beispiel zeigt. Das wurde bei Dutzenden von organischen Reaktionen demonstriert. Die Einfachheit und die Geschwindigkeit, mit der Reaktionen mit begrenztem Volumen durchgeführt werden können, haben dazu geführt, dass sie – neben den ihnen entsprechenden Reaktionen in der Bulkphase – bereits in studentische Laborpraktika Einzug gehalten haben.<sup>[11]</sup> Erhebungen unter Studenten in derartigen Kursen, wo sowohl herkömmliche Synthesen als auch Synthesen in Tröpfchen durchgeführt werden, zeigen, dass sie die schnelleren Experimente bevorzugen. Das erste Beispiel einer Reaktionsbeschleunigung in der Literatur betraf durch Desorptions-Elektrospray-Ionisation (DESI) erzeugte Mikrotröpfchen.<sup>[12]</sup> Ein Patent,<sup>[13]</sup> das die Anwendung der ESI bei der Durchführung von organischen Reaktionen beschreibt, wurde fast zur gleichen Zeit erteilt. Bemerkenswerte Beobachtungen der Reaktionsbeschleunigung in Lösungen mit begrenztem Volumen sind jedoch keinesfalls rar. So wurde berichtet, dass beschleunigte Reaktionen in begrenzten Volumina in dünnen Filmen (der zweidimensionalen Variante von Tröpfchen),<sup>[14]</sup> in durch Elektrospray-Ionisation (ESI) bzw. Elektroschallspray-Ionisation (ESSI),<sup>[8,10,15]</sup> extractive Elektrospray-Ionisation (EE-SI)/Mikrotröpfchenfusion,<sup>[16]</sup> Nano-ESI<sup>[17]</sup> und Papier-Spray-Ionisation (PSI)<sup>[17,18]</sup> erzeugten Tröpfchen und in Mikrofluidik-Experimenten<sup>[19]</sup> auftreten. In den meisten Fällen wurde die Beschleunigung mittels MS-Analyse festgestellt. Obwohl sich die Erforschung superschneller Reaktionen in Tröpfchen noch im Anfangsstadium befindet, ist es bedeutsam, dass sich bereits wichtige Anwendungen abzeichnen. Diese umfassen die schnelle Derivatisierung von Analyten für die verbesserte chemische Analyse,<sup>[20]</sup> mechanistische Untersuchungen von Lösungsphasenreaktionen,<sup>[10,12,15]</sup> Synthesen im präparativen Maßstab auf einer kurzen Zeitskala<sup>[15]</sup> und grundlegende Studien zu Tröpfchen, einschließlich ihrer Ladungs- und Molekülverteilung.<sup>[17]</sup> Anschließend werden wir uns mit dem Rätsel befassen, mit dem der Kurzaufsatz begann, und danach Anwendungen für die neuartige Technik der Reaktionsbeschleunigung in begrenztem Volumen vorstellen. Da es gute Übersichtsartikel zur Reaktionsverfolgung mittels Massenspektrometrie gibt,<sup>[2a,3b,21]</sup> darunter von Eberlin und Mitarbeitern zur Untersuchung von Reaktionen wie der Stille-Reaktion,<sup>[3a]</sup> der Baylis-Hillman-Reaktion<sup>[3g]</sup> und der Biginelli-Reaktion<sup>[6c]</sup> mittels ESI, von De Angelis<sup>[6c]</sup> zur Unter-



Xin Yan promovierte kürzlich auf dem Gebiet der Analytischen Chemie an der Purdue University bei Professor R. Graham Cooks. Ihre Forschungsinteressen gelten der Entwicklung neuer Methoden in der Massenspektrometrie, reaktionsmechanistischen Untersuchungen und der Reaktionsbeschleunigung mittels Massenspektrometrie. Derzeit absolviert sie ein Postdoktorat in der Forschungsgruppe von Professor Richard N. Zare an der Stanford University.



Ryan M. Bain erhielt 2012 seinen B.S. in Chemie an der Saint Xavier University. Gegenwärtig ist er Graduate Student bei Professor R. Graham Cooks an der Purdue University. Seine Forschungsinteressen umfassen Reaktionen bei der Elektrospray-Ionisation, Reaktionsverfolgung und Chiralitätsanalyse mittels Massenspektrometrie sowie den Ursprung der Homochiralität.

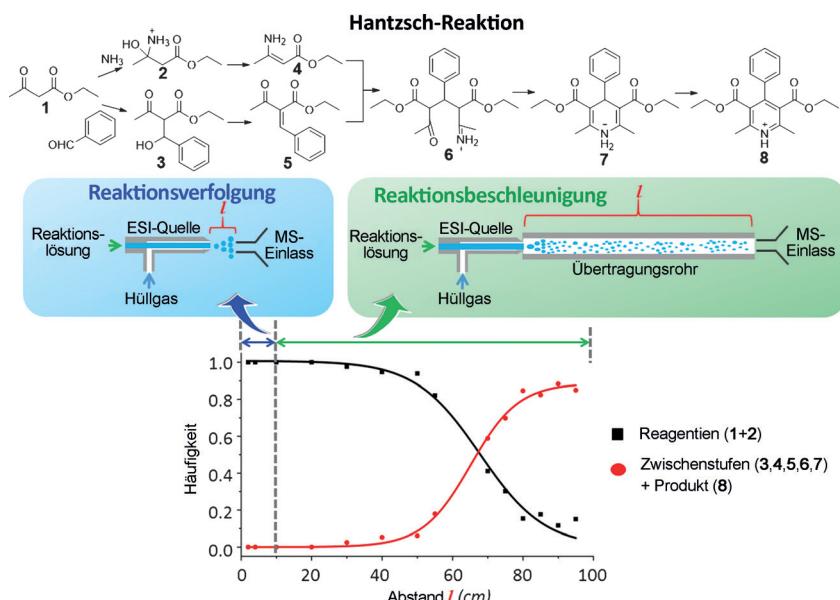


R. Graham Cooks ist Henry Bohn Hass Distinguished Professor für Chemie an der Purdue University. Seine Forschungsinteressen gelten der Entwicklung und Anwendung von Massenspektrometern in Grundlagenstudien. Er wirkte mit am Konzept und an der Einführung der Tandem-Massenspektrometrie und der Desorptions-Ionisation, insbesondere der matrixgestützten Desorptions-Ionisation. Seine Arbeiten zu Ionisationsmethoden führten zur Desorptions-Elektrospray-Ionisation, mit Anwendungen wie der Gewebebildung zur Abgrenzung von Karzinomen in der Chirurgie, der Forensik und der Arzneimittelforschung.

suchung der Ugi-Reaktion und der Ugi-Smiles-Reaktion unter Anwendung der ESI sowie von Metzger<sup>[3m]</sup> und McInroe<sup>[22]</sup> zur Untersuchung von metallkatalysierten Reaktionen mittels ESI, außerdem von Zare und Mitarbeitern zur Anwendung der DESI zur Erforschung von metallorganischen Reaktionen<sup>[23]</sup> oder zum Abfangen von kurzlebigen Zwischenprodukten,<sup>[24]</sup> wird dieser Aspekt nicht behandelt. Stattdessen geben wir einen Überblick zu in Tröpfchen verfolgten beschleunigten Reaktionen und diskutieren mögliche Mechanismen. Der Hintergrund bzw. Ursprung von Beschleunigungsphänomenen in Tröpfchen wird kurz dargelegt. Außerdem werden bereits existierende und mögliche zukünftige Anwendungen der Beschleunigung in begrenzten Volumina erörtert.

## 2. Anwendungsbereich, Hintergrund und Methoden der Reaktionsbeschleunigung in Mikrotröpfchen

Die Kompartimentierung in Tröpfchen bietet für chemische Reaktionen abgegrenzte Stellen mit großer Oberfläche. Tröpfchen können durch verschiedene Methoden gebildet



**Abbildung 1.** Reaktionsverfolgung versus Reaktionsbeschleunigung der Hantzsch-Reaktion in Elektrospray-Tröpfchen als Funktion des Abstandes ( $l$ ) zwischen dem Einlass des Massenspektrometers und der Spray-Quelle. Das Spray-Übertragungsrohr wurde einfach genutzt, um Tröpfchen in den Experimenten zur Reaktionsbeschleunigung zu fokussieren. Die gestrichelte Linie gibt den sicheren Abstand für die Reaktionsverfolgung an, bevor in diesem speziellen Beispiel die Beschleunigung einsetzt.

werden, wie elektrohydrodynamische Zerstäubung,<sup>[25]</sup> Tropfgießen auf eine Oberfläche,<sup>[14b]</sup> Strömungsfokussierung,<sup>[26]</sup> akustische Erzeugung,<sup>[27]</sup> Worthington-Jetting<sup>[28]</sup> und Tröpfchensuspension.<sup>[29]</sup> Mit diesen Methoden gebildete Tröpfchen haben Volumina im Femtoliter- bis Mikroliterbereich. Beschleunigte Reaktionen wurden in Tröpfchen verfolgt, die 1) durch Spray—Verfahren zur Ionisation bei der MS gebildet wurden, wobei durch ein starkes elektrisches Feld ein Tröpfchenstrahl aus einem Taylor-Konus (Prozess der elektrohydrodynamischen Zerstäubung) mittels DESI,<sup>[12]</sup> ESI,<sup>[8,10]</sup> EESI<sup>[16]</sup> und PSI<sup>[17,18]</sup> erzeugt wird; 2) durch Tropfgießen auf eine Oberfläche, wobei mittels Pipette durch die Wechselwirkung mit der Oberfläche Tröpfchen bzw. gegossene dünne Filme gebildet werden;<sup>[14b]</sup> oder 3) durch Sprühnebel<sup>[14a,30]</sup> und mittels Mikrofluidik, wobei eine koaxiale Strömung (Strömungsfokussierung) einen Flüssigkeitsstrahl in Tröpfchen zerlegt.<sup>[31]</sup> So reagierende Systeme können direkt oder indirekt durch MS-Analyse untersucht werden, um Daten zu Lösungsphasenreaktionen zu erhalten.

## 2.1. Anwendungsbereich der Reaktionsbeschleunigung in Mikrotröpfchen

Sehr viele in Tröpfchen stattfindende Reaktionen zeigen eine überraschend große Beschleunigung, was den Schwerpunkt dieses Kurzaufsatzes bildet. Das soll nicht darüber hinwegtäuschen, dass Reaktionen unter anderen Bedingungen mit deutlich weniger starker Beschleunigung ablaufen, wie Reaktionen in Tröpfchen in der Mikrofluidik, die eine Beschleunigung bis zu einem Faktor von 50 aufweisen.<sup>[32]</sup> Stark beschleunigte Reaktionen sind in Tabelle 1 aufgeführt, wobei die angegebenen Beschleunigungsfaktoren durch Ver-

gleich mit den Reaktionen in der Bulkphase ermittelt wurden. Die dargestellten Reaktionen umfassen die Bildung einer Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindung, die Bildung einer Kohlenstoff-Stickstoff-Bindung, Cyclisierung, Oxidation-Reduktion und mehrstufige Mehrkomponentenreaktionen. Die Ausbildung nichtkovalerter Bindungen in mit Biomolekülen verbundenen Reaktionen, wie Peptidfaltung oder Konjugation mit kleinen Molekülen, ist nicht einbezogen, da es bisher nur wenige Beispiele gibt. Die aufgeführten Reaktionen sind normalerweise homogene Reaktionen, doch heterogene Reaktionen scheinen mitzuwirken, wenn Reagenzien durch Tropfgießen aufgebracht werden. Viele der Reaktionen sind pH-empfindlich.

## 2.2. Verschiedene beschleunigte Reaktionen in begrenzten Volumina

Im vergangenen Jahrzehnt ist die Mikroreaktor-Technologie, wie Mikroemulsionen,<sup>[34]</sup> Mikroreaktoren auf Array-Basis<sup>[35]</sup> und Mikrofluidik-Systeme,<sup>[31,36]</sup> auf großes Interesse gestoßen, da sie die Kompartimentierung von Reaktionen in Volumina im Nanoliter- bis Mikroliterbereich ermöglicht. Obwohl diese Technik hervorragende Anwendungen hat, war ihre Erforschung nur selten auf die Reaktionsbeschleunigung gerichtet. In mikrofluidischen Kanälen gebildete Tröpfchen wurden als Mikroreaktoren im chemischen und biochemischen Screening,<sup>[37]</sup> bei der Protein-Kristallisation,<sup>[38]</sup> bei der Manipulation von einzelnen Zellen<sup>[39]</sup> und subzellulären Kompartimenten<sup>[40]</sup> und bei Messungen der Enzymkinetik und in biochemischen Assays eingesetzt.<sup>[41]</sup> Die Beweggründe für diese Studien waren die Minimierung der Größe des Reaktionsgefäßes und die Nutzung der Vorteile der Minia-

Tabelle 1: Stark beschleunigte Reaktionen in Mikrotröpfchen.

Nr.	Reaktion	Methode
Girard-Reagens T mit Ketosteroiden:		
1		DESI <sup>[12]</sup>
Michael-Addition:		
2		DESI <sup>[12]</sup>
Aza-Michael-Addition:		
3		Tropf-gießen <sup>[14b]</sup>
Mannich-Reaktion:		
4		Tropf-gießen <sup>[14b]</sup>
Peptidvernetzung:		
5		ambientes Soft-Landing <sup>[33]</sup>
Katritzky-Reaktion:		
6		reaktive PSI <sup>[18]</sup>
Basekatalysierte Claisen-Schmidt-Kondensation:		
7		ESSI, <sup>[15]</sup> PSI <sup>[11b,17]</sup>
Thiamin-katalysierte Benzoinkondensation:		
8		ESSI <sup>[15]</sup>
Hantzsch-Reaktion:		
9		ESI <sup>[8,11a]</sup>

Tabelle 1: (Fortsetzung)

Nr.	Reaktion	Methode
Reduktion von DCIP mit Ascorbinsäure:		
10		EESI <sup>[16a]</sup>
Pomeranz-Fritsch-Synthese von Isochinolin:		
11		ESI <sup>[10]</sup>
Friedländer-Chinolinsynthese:		
12		ESI <sup>[10]</sup>
Combes-Chinolinsynthese:		
13		ESI <sup>[10]</sup>
Haloformreaktion:		
14		PSI <sup>[11c]</sup>

[a] PSI = Papier-Spray-Ionisation.

turisierung, einschließlich des geringen Reagensverbrauchs,<sup>[42]</sup> der Hochdurchsatzsynthese,<sup>[43]</sup> des schnellen Mischens der Reagentien<sup>[44]</sup> und der Steuerung über die zeitliche Abstimmung der Reaktion.<sup>[45]</sup> Allerdings demonstrierte ein aktueller Bericht (2014),<sup>[32]</sup> dass die Geschwindigkeit einer speziellen chemischen Synthese in Tröpfchen von 2.5 pL, die durch mikrofluidische Emulgierung erzeugt wurden, um einen Faktor von 45 erhöht wurde. Auch eine Modellreaktion – die Synthese eines fluoreszierenden Imins – erwies sich in Tröpfchen als günstiger als in Bulklösung. Bemerkenswert ist, dass die Geschwindigkeits- und Gleichgewichtskonstanten umgekehrt proportional zum Tröpfchenradius waren.<sup>[32]</sup> Außerdem unterschied sich die Kinetik der Reaktionen in Tröpfchen (sigmoidal) von der Kinetik der Bulkexperimente (exponentiell).

Interessante Parallelen können gezogen werden zwischen der Reaktionsbeschleunigung in Tröpfchen in Luft und der in „umgewandelten“ Dampftröpfchen, die in der Sonochemie in Lösung gebildet werden, wobei akustische Kavitation und nachfolgender adiabatischer Kollaps der Blase zum Aufbau enormer Energien im Inneren der Blase führen, was Temperaturen von ungefähr 5000°C und Drücke von einigen 100 atm in einem mikroskopischen Bereich der beschallten Flüssigkeit zur Folge hat.<sup>[46]</sup> Die lokalisierten energiereichen Blasen mit einer Lebensdauer von einigen Mikrosekunden enthalten hochreaktive Flächen, die katalytische Reaktionen sowohl in homogenen als auch in heterogenen Phasen för-

dern. Es wird interessant sein, die Analogie von Kavitation und Mikrotröpfchen in identischen chemischen Systemen weiter zu erforschen, um die Mitwirkung von Grenzflächen bei beiden Arten von Reaktionen in Tröpfchen aufzuklären.

Ein ähnliches Phänomen ist die erhebliche Beschleunigung, die unter „An-Wasser“-Bedingungen beobachtet wird, wobei gefunden wurde, dass Reaktionen wie Diels-Alder-Cycloadditionen<sup>[29a, 47]</sup> und Claisen-Umlagerungen<sup>[48]</sup> von hydrophoben Verbindungen beschleunigt werden. Oft laufen derartige Reaktionen schneller ab, wenn unlösliche Reaktanten in wässriger Suspension gerührt werden.<sup>[29]</sup> Die besonderen Eigenschaften von Molekülen an der Phasengrenze zwischen Wasser und nicht damit mischbaren hydrophoben Ölen könnten eine Rolle bei der Erhöhung der Geschwindigkeit von Reaktionen „an Wasser“ spielen.<sup>[29b]</sup>

### 2.3. Reaktionsbeschleunigung bei der DESI

Die DESI<sup>[49]</sup> wurde ursprünglich als Analysetechnik entwickelt, welche die ambiente Ionisation von Proben in Luft außerhalb des Massenspektrometers ermöglicht. Mit dieser Methode können chemisch komplexe Proben in ihrem ursprünglichen Zustand ohne Probenvorbereitung analysiert werden. Bei der DESI werden geladene primäre Mikrotröpfchen des Spray-Lösungsmittels pneumatisch auf eine Probe in kondensierter Phase gelenkt. Der extrahierte Analyt löst sich in einem dünnen Oberflächenfilm des Spray-Lösungsmittels, von welchem dann das Lösungsmitteltröpfchen auf die Freisetzung von Mikrotröpfchen, die sowohl den Analyten als auch das in dem Spray-Lösungsmittel vorhandene Reagens enthalten, einwirkt. Der Wandel der DESI von einer reinen Analysetechnik zu einer Methode zur Untersuchung von Reaktionen vollzog sich aufgrund der leichten chemischen Derivatisierung<sup>[50]</sup> von Analyten und der Notwendigkeit, bei solch einer Derivatisierung die Analyse durch verbesserte Ionisierung bestimmter Analyten zu erleichtern. Das resultierende Experiment, häufig als reaktive DESI bezeichnet, wurde rasch bei der Untersuchung chemischer Reaktionen angewendet, indem dem Spray-Lösungsmittel der DESI spezifische Reagentien zugesetzt wurden, um mit be-

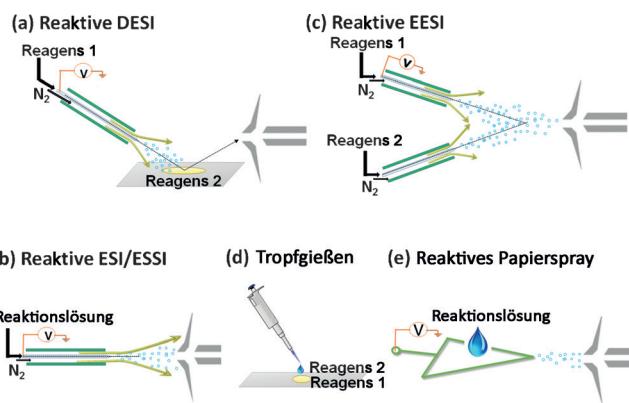


Abbildung 2. Angewandte Methoden, um stark beschleunigte Reaktionen in Tröpfchen zu bewirken.

stimmten funktionellen Gruppen zu reagieren.<sup>[12]</sup> Produkte werden in den sekundären Tröpfchen gebildet und zur Analyse direkt in das Massenspektrometer überführt (Abbildung 2a). In Abhängigkeit von den gewählten Bedingungen (siehe Abbildung 1) können die Reaktionen in den sekundären Tröpfchen der reaktiven DESI beschleunigt werden. Typisch sind Steigerungen der Reaktionsgeschwindigkeit um mehrere Zehnerpotenzen. So erfolgt beispielsweise die Reaktion der Biomolekül-Derivatisierung nach Sprühen einer angesäuerten Lösung von Girard-Reagens T auf Ketosteroid-Flecke auf einer inerten Oberfläche vermutlich auf der Millisekunden-Zeitskala. Aus dem Massenspektrum sind ladungsmarkierte Hydrazone in den wegfliegenden sekundären Tröpfchen ersichtlich (Abbildung 3). In ähnlicher Weise erhöhte sich deutlich die Geschwindigkeit einer basekatalysierten Michael-Addition in negativ geladenen Mikrotröpfchen.<sup>[12]</sup>

### 2.4. Reaktionsbeschleunigung bei der ESI, ESSI und Nano-ESI

Durch ESI und ESSI<sup>[51]</sup> (einer Variante der ESI unter Verwendung von Ultraschallzerstäubungsgas) gebildete Tröpfchen wurden ebenfalls als Mikroreaktoren zur Unter-

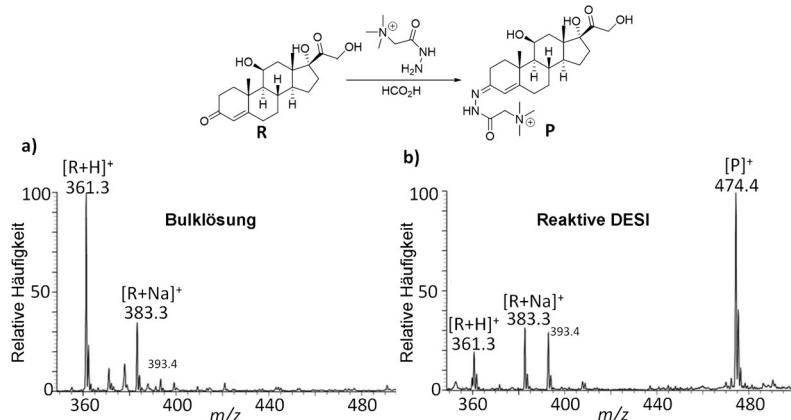


Abbildung 3. Massenspektren des Reaktionsgemisches von Girard-Reagens T mit Ketosteroid (R) unter Bildung des ladungsmarkierten Hydrazin-Produkts (P), aufgenommen a) nach 5 min in Bulklösung, wobei keine Produkt-Ionen nachweisbar waren, oder b) sofort in einem Experiment der reaktiven DESI, wobei Produkt-Ionen dominieren. In modifizierter Form aus Lit. [12] mit Genehmigung der Royal Society of Chemistry.

suchung der Reaktionsbeschleunigung erforscht. Im ESI- bzw. ESSI-Experiment<sup>[8,15]</sup> werden Lösungen eines Reaktionsgemischs der Elektrospray-Ionisation unterzogen, wodurch geladene Tröpfchen gebildet werden, die die Reagenzien einkapseln (Abbildung 2b). Gewöhnlich wird ein Gas in einer koaxialen Hülle verwendet, um die Kapillare zur Verbesserung der Vernebelung zu umhüllen und den aus der Kapillaren spitze austretenden Sprühnebel zum Einlass des Massenspektrometers zu führen. Höhere Durchflüsse (wie bei der ESSI angewendet) führen zu kleineren Mikrotröpfchen, die die Reaktionsgeschwindigkeit günstig beeinflussen können. Die geladenen Reaktanten, Zwischenprodukte und Produkte werden durch Desolvatisierungs- und Zerfallsprozesse aus den Elektrospray- bzw. Elektroschallspray-Tröpfchen freigesetzt und gelangen durch eine beheizte Kapillare in das Massenspektrometer. Im Gegensatz zur DESI sind keine Wechselwirkungen zwischen Tröpfchen und Oberfläche beteiligt, was die Untersuchung homogener Prozesse innerhalb der Tröpfchen und an ihren Grenzflächen zu Luft ermöglicht.

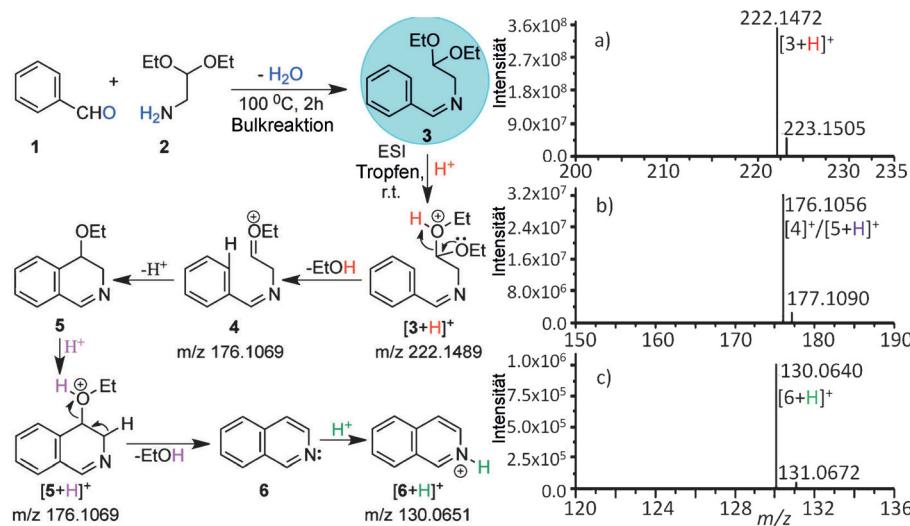
Parameter wie der Abstand zwischen der Spray-Quelle und dem Einlass des Massenspektrometers sollten in Anbe tracht ihrer entscheidenden Rolle bei der Steuerung des Ex periments sorgfältig festgelegt werden. In dem am Anfang dieses Kurzauf satzes angeführten Beispiel wurde eine be schleunigte Hantzsch-Synthese von 1,4-Dihydropyridinen in ESI-Tröpfchen realisiert.<sup>[8]</sup> An dieser Reaktion sind mehrere Zwischenprodukte beteiligt, und ihr zeitlicher Verlauf kann durch Änderung des Abstandes zwischen der Spray-Quelle und dem Einlass des Massenspektrometers verfolgt werden (Abbildung 1). Größere Abstände verlängern die Zeit für die Desolvatisierung der geladenen Mikrotröpfchen, was zu einer wirksameren Umsetzung aufgrund der höheren Reagens konzentrationen in den kleineren Tröpfchen führt. Solch ein

Abstandseffekt wurde auch in basekatalysierten Claisen-Schmidt-Kondensationen unter Anwendung der Nano-ESI beobachtet, obwohl die Änderung des Abstandes bei der Nano-ESI aufgrund des äußerst geringen Spray-Volumens und der fehlenden pneumatischen Unterstützung schwierig ist.

Eine Beschleunigung durch ESI wurde ebenfalls in der Pomeranz-Fritsch-Synthese von Isochinolin festgestellt (Abbildung 4).<sup>[10]</sup> Die vom Benzalaminoacetal **3** ausgehende Cyclisierung in der Bulkphase zum Isochinolin **6** dauert Stunden bis Tage und erfordert eine hohe Säurekonzentration. In scharfem Kontrast dazu wurde Isochinolin in Electrospray-Mikrotröpfchen innerhalb von Millisekunden und ohne Säurekatalyse gebildet. Es wurde beobachtet, dass die Reaktionsgeschwindigkeiten in den geladenen Mikrotröpfchen um einen Faktor von mehr als  $10^6$  höher waren als die in der Bulkphase, natürlich unter der Voraussetzung, dass die Ionisierungsgrade von Produkt und Reaktant ähnlich sind. Die postulierten Zwischenprodukte **4** und **5** wurden unter Ausnutzung dieses schnellen Prozesses abgefangen (Abbildung 4b). Enorme Beschleunigungen wurden auch in der Friedländer-Synthese (um einen Faktor von mehr als  $10^5$ ) und der Combes-Chinolinsynthese (um einen Faktor von mehr als  $10^3$ ) gefunden.<sup>[10]</sup>

## 2.5. Reaktionsbeschleunigung bei der EESI

Die EESI<sup>[52]</sup> wurde als Methode zur direkten Analyse von Spurenmengen von Verbindungen in komplexen Matrices ohne Verdünnung oder Vorbehandlung vorgestellt. Dabei werden zwei separate Tröpfchen-Sprühseinrichtungen verwendet, eine zum Vernebeln der Probelösung, die andere zum Erzeugen von geladenen Mikrotröpfchen des Lösungsmittels.



**Abbildung 4.** Pomeranz-Fritsch-Synthese von Isochinolin in geladenen Mikrotröpfchen. Links: Zweistufige Synthese von Isochinolin. Zuerst wurde die übliche Bulkreaktion genutzt, um durch Umsetzen von **1** und **2** das als Vorstufe **3** dienende Imin zu synthetisieren. Danach wurde die Vorstufe **3** einer Elektrospray-Ionisation aus einer methanolischen Lösung unterzogen (siehe Abbildung 1b), wodurch sich geladene Tröpfchen unter Einkapselung der Vorstufe **3** (dargestellt in dem grauen Kreis) bildeten, die anschließend über die Zwischenprodukte **4** und **5** in das Isochinolin **6** überführt wurde. Alle Spezies, das heißt die Vorstufe **3** (a), die Zwischenprodukte **4** und **5** (b) sowie das Produkt **6** (c), wurden mit einem hochauflösenden Orbitrap-Massenspektrometer nachgewiesen. Aus Lit. [10] mit Genehmigung von John Wiley and Sons.

Die Sprücheinrichtungen sind so ausgerichtet, dass sich die beiden Tropfenfahnen in einer Entfernung zu den Sprücheinrichtungen von einigen Millimetern kreuzen und eine Flüssig-Flüssig-Extraktion vor der Analyse der extrahierten Probe erfolgt. Lee et al. initiierten die Anwendung einer auf fusionierten Mikrotröpfchen basierenden Version dieser Methode („Mikrotröpfchenfusions-MS“), um Reaktionen in Tröpfchen durch Versprühen der Reagentien aus zwei voneinander unabhängigen Emittoren zu untersuchen, wobei die Reaktionen in den fusionierten Tröpfchen auf ihrem Weg zum Massenspektrometer stattfinden (Abbildung 2c).<sup>[16]</sup> Die Bahnen der fusionierten Tröpfchen wurden mit einer Hochgeschwindigkeitskamera abgebildet, wodurch belegt wurde, dass die Tröpfchenfusion ungefähr in einem Radius von 500 µm um das Zentrum der Tröpfchenfusion erfolgt. Die Zeit zum Mischen der Reagentien in den fusionierten Tröpfchen ist viel kürzer als die zur Diffusion in der Bulkphase benötigte Zeit und ist gegenüber der Wanderungszeit der fusionierten Tröpfchen zum Einlass des Massenspektrometers vernachlässigbar. Daher ermöglicht die Tröpfchenfusion die Beobachtung von Vorgängen am Anfang verschiedener schneller chemischer Reaktionen in der Flüssigphase und relativ genaue Berechnungen von Reaktionszeiten. Eine erhebliche Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit wurde bei der Reduktion von Dichlorphenolindophenol (DCIP) mit Ascorbinsäure in fusionierten Tröpfchen sowie bei der Bindung von Cytochrom c und Maltose beobachtet; bei beiden war die Geschwindigkeit mehr als 1000-mal höher als die vorher für die Bulkreaktion angegebene.<sup>[16a]</sup> Außerdem wurden ähnliche Methoden, wie sekundäre Elektrospray-Ionisation,<sup>[53]</sup> Elektrospray-Ionisation unter Tröpfchenfusion<sup>[54]</sup> und Flüssig-DESI,<sup>[55]</sup> bei der On-line-Verfolgung von Reaktionen zum Abfangen von Reaktionszwischenprodukten angewendet.

## 2.6. Reaktionsbeschleunigung in dünnen Filmen

Lösungen mit begrenztem Volumen in Form von dünnen Grenzflächenfilmen können durch einfaches Tropfgießen einer Lösung auf eine Oberfläche erzeugt werden (Abbildung 2d). Derartige dünne Filme haben sich als wirksame Reaktionsmedien, in denen organische Reaktionen beschleunigt werden können, erwiesen.<sup>[14b]</sup> Es wurden verschiedene Arten von Oberflächen, wie Goldsubstrate, Edelstahl und Aluminiumfolie, zur Beeinflussung der chemischen Wechselwirkungen zwischen den Reagentien und der Oberfläche untersucht. Die eingesetzten Oberflächen müssen jedoch sorgfältig ausgewählt werden, da auch ihre physikalischen Eigenschaften die Reaktionseffizienz beeinflussen. Beispielsweise sammeln sich in der Regel mehr Produkte auf inerten Goldoberflächen als auf Polytetrafluorethylen an, weil hydrophile Oberflächen wie Gold eine größere Fläche als Fluorpolymere aufweisen, was wiederum zu einer schnelleren Verdampfung des Lösungsmittels und schließlich zu einer höheren Reagenskonzentration und einer stärkeren Beschleunigung führt. Produkte beschleunigter Reaktionen können von diesen Oberflächen für die nachfolgende Analyse mittels MS und anderer Analyseverfahren gut abgenommen werden.<sup>[14b]</sup> So wurde eine viel schnellere C-N-Bindungsbil-

dung bei Dünnsfilmversionen der Aza-Michael-Addition und der Mannich-Reaktion<sup>[14b]</sup> als bei den entsprechenden Reaktionen in Bulklösung beobachtet.

Chemisch modifizierte Oberflächen können durch ambientes Soft-Landing von Ionen (Abbildung 5),<sup>[30]</sup> das die schonende Abscheidung von in Elektrospray-, Elektroschallspray- oder Nano-Elektrospray-Tröpfchen gebildeten

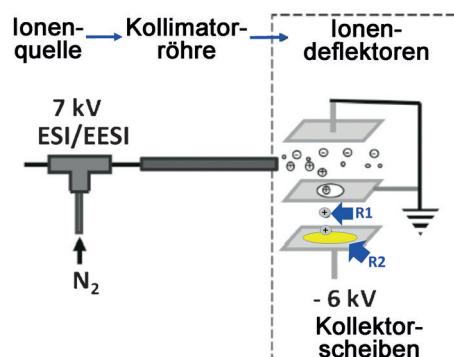
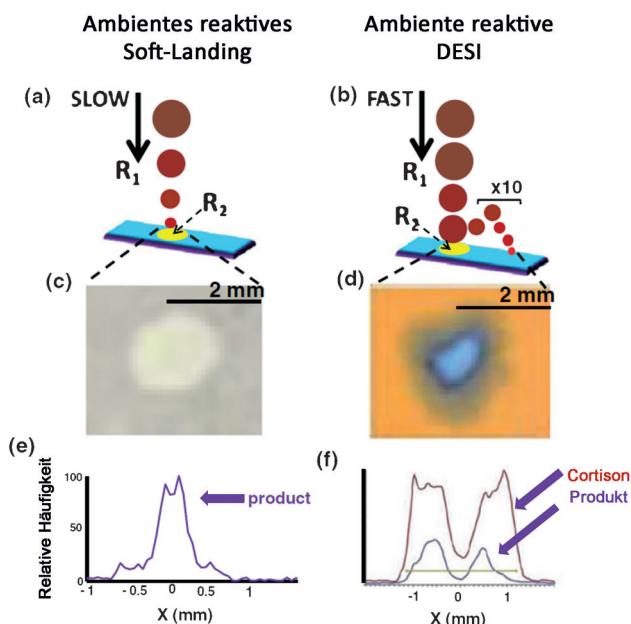


Abbildung 5. Reaktion an einer Dünnsfilm-Grenzfläche unter ambientem Soft-Landing von Ionen. In modifizierter Form aus Lit. [30]. Copyright 2011 American Chemical Society.

Molekülionen R1 auf einem Feststoff R2 auf einer Außenoberfläche ermöglicht, erzeugt werden. Wenn die Oberfläche ein geeignetes Reagens aufweist, kann ein reaktives Ionen-Landing unter Bildung eines Produkts auf der Oberfläche erfolgen. Ein Beispiel ist die Bildung eines Chelatkomplexes eines Peptids durch Soft-Landing von Ionen in einen Chelatbildner. Tröpfchen von Oligolysin-Kationen wurden unter Verwendung einer Anordnung von zehn Nano-ESI-Emittern erzeugt und durch Soft-Landing auf einer mit einem Vernetzer vorbeschichteten Oberfläche abgeschieden. Die Peptidvernetzung wurde danach beinahe sofort und quantitativ vollzogen, während nach einstündiger Umsetzung das vernetzte Produkt in der Bulklösung nicht nachgewiesen wurde.<sup>[33]</sup> Die Reaktion wurde in einer offenen Laborumgebung und bei Atmosphärendruck durchgeführt, deshalb ist die Analyse der sich ergebenden Produkte mit verschiedenen Analyseverfahren unkompliziert. In einem ähnlichen präparativen Experiment führte Soft-Landing von Metallionen enthaltenden Tröpfchen, die mittels Elektrospray-Ionisation erzeugt wurden, zur Metallumlagerung in dem fast trockenen Tropfenfilm auf der Oberfläche unter Bildung von Nanopartikeln.<sup>[56]</sup> Die in diesen Soft-Landing-Experimenten genutzten Prozesse beinhalten keine schnell wandernden Tröpfchen, sodass sie klar abgegrenzte Flecke erzeugen. Wenn strukturierte Masken verwendet werden, können eindeutig definierte zweidimensionale Oberflächenmerkmale erzielt werden. Eine säurekatalysierte Kondensation mit Girard-Reagens (Tabelle 1, Reaktion 1) wurde unter Anwendung sowohl von Soft-Landing auf einer das Girard-Reagens tragenden Oberfläche als auch von reaktiver DESI durchgeführt (Abbildung 6). Im ersten Fall wurde das Produkt an der Auf treffstelle vorgefunden, im letzteren Fall an den Stellen des Niederschlags der sekundären Tröpfchen. Der Originalar-



**Abbildung 6.** Gegensätzliche Reaktionsproduktverteilungen, die erhalten wurden nach Auftreffen von Elektrospray-Tröpfchen unter Anwendung a) einer Vorrichtung zum ambienten Soft-Landing, mit Tröpfchen von geringer Geschwindigkeit, oder b) der DESI, mit Tröpfchen von hoher Geschwindigkeit. Soft-Landing führt zu Produktflecken, bei denen sich die Produkt-Ionen ( $m/z$  474) in der Mitte anreichern (c), während die Produkte im DESI-Experiment in einem die Auftreffstelle umgebenden Spritzring vorgefunden werden (d, f). Aus Lit. [14a] mit Genehmigung von Springer.

Artikel erbrachte den Nachweis, dass beim DESI-Experiment die Reaktion in den sekundären Tröpfchen abläuft, obwohl immer auch Reaktionen in Oberflächenfilmen in Erwägung gezogen werden müssen. Diese beiden Orte für beschleunigte Reaktionen sind besonders beachtenswert bei der Papier-Spray-Ionisation, die Gegenstand des nächsten Abschnitts ist, wobei sowohl dünne Lösungsfilme als auch Mikrotröpfchen einbezogen werden.

### 2.7. Reaktionsbeschleunigung bei der Papier-Spray-Ionisation

PSI<sup>[57]</sup> ist eine Methode der ambienten Ionisation, die breite Anwendung bei der direkten MS-Analyse von komplexen Gemischen gefunden hat. Sie kann auch im reaktiven Modus – als reaktive Papier-Spray-Ionisation – genutzt werden, um organische Reaktionen durchzuführen, wobei Molekülionen unter Umgebungsbedingungen erzeugt werden.<sup>[11c, 17, 18]</sup> Die Reagentien werden durch Tropfgießen oder Pipettieren auf eine dreieckige Papieroberfläche übertragen. Stark beschleunigte Reaktionen können in dünnen Filmen von Reaktionsgemischen, die man auf Papier verweilen lässt, ablaufen (Abbildung 2e). Wenn eine Spannung angelegt wird, wird das Gemisch vom Papier in Mikrotröpfchen überführt, die direkt mittels MS charakterisiert werden. Entweder der dünne Film auf dem Papier oder die geladenen Tröpfchen oder auch beide können den Ort für die beschleunigte Reaktion bilden, wobei deren Beitrag vom Grad

der Lösungsmittelverdampfung an der jeweiligen Stelle abhängig sein wird. Katritzky-Reaktionen,<sup>[18]</sup> basekatalysierte Claisen-Schmidt-Kondensationen<sup>[17]</sup> und Haloformreaktionen<sup>[11c]</sup> wurden in Experimenten der reaktiven PSI beschleunigt. Die PSI bietet somit eine Plattform für die rasche Bewertung der Reaktivität und das schnelle Screening organischer Reaktionen, obwohl sie wegen der heterogenen Beschaffenheit des Systems zur Untersuchung der Grundlagen der Beschleunigung weniger gut geeignet ist als andere Spray-Methoden.

### 2.8. Reaktionsbeschleunigung mit anderen Ionisationsmethoden

Es wurden Beispiele der Reaktionsbeschleunigung unter Verwendung von anderen Ionenquellen als Spray-Ionenquellen beschrieben. Bei der Laser-Desorptions-Ionisation unter Hochspannung wurden Klick-Reaktionen und die Bildung von Kupfer(I)triazol-Dimeren durch Katalyse mit laserabgetragenem Kupfer(I) und Erwärmung mittels Laser beschleunigt.<sup>[58]</sup> Die Selbstcyclokondensation von Aminozuckern in Form der Gutknecht-Kondensation wurde unter Bedingungen der chemischen Ionisation bei Atmosphärendruck (APCI, atmospheric pressure chemical ionization) ohne Hinzugeben zusätzlicher Katalysatoren oder Reagentien erreicht.<sup>[59]</sup> Die thermische Verdampfung der Aminozuckerlösungen bei der APCI erfüllt die entscheidenden Voraussetzungen für diese Reaktion, das heißt Austreiben von HCl zur Bildung der neutralen Form des Aminozuckers aus seinem Salz, Aktivierung des Aminozuckers zum hochreaktiven  $\alpha$ -Aminoaldehyd mit offenkettiger Struktur und nachfolgende Dehydratisierungsschritte unter Bildung der Imin- und Dihydropyrazin-Zwischenprodukte. Erwähnt werden sollte noch, dass dieser letzte Schritt eine Ion-Molekül-Gasphasenreaktion und keine Lösungsphasenreaktion in Tröpfchen ist.

### 3. Reaktionsbeschleunigung in Mikrotröpfchen versus Reaktionsverfolgung mit Mikrotröpfchen

Beschleunigte Reaktionen in Mikrotröpfchen, die durch Spray-Ionisationsquellen erzeugt werden, dürfen nicht mit der Verwendung solcher Mikrotröpfchen-Spray-Ionenquellen zur Verfolgung des Verlaufs von Reaktionen mittels MS verwechselt werden. Die Unterscheidung zwischen Reaktionsverfolgung und Reaktionsbeschleunigung, die in der Literatur nicht immer klar vollzogen wird, liegt einfach darin, dass Unterschiede in den Betriebsbedingungen die eine oder die andere Auswirkung begünstigen. Die Variablen der Experimente (z. B. Durchmesser des Spray-Emitters, Durchflussgeschwindigkeit der Lösung, Druck des Vernebelungsgases, angelegte Spannung) beeinflussen die Eigenschaften der anfänglich gebildeten Tröpfchen (z. B. Größe, Geschwindigkeit und Verteilung von gelösten Stoffen, Art und Verteilung der Ladung), und dies entscheidet wiederum darüber, was mit den Tröpfchen und ihrer Reagensbeladung weiter geschieht, wie Vorgänge der Desolvatisierung und des Ausstoßes von Molekülen (Modell der geladenen Reste, Io-

nenemissionsmodell und Kettenejektionsmodell).<sup>[60]</sup> Der Schlüsselfaktor, der bestimmt, ob die Bedingungen die Reaktionsbeschleunigung gegenüber der Reaktionsverfolgung begünstigen, ist die Art des Desolvatisierungsvorgangs. Die kontinuierliche Lösungsmittelverdampfung aus Tröpfchen, die jeweils (die für eine biomolekulare Reaktion erforderlichen) Moleküle beider Reagentien enthalten, sollte aufgrund der erhöhten Konzentrationen der Analyte und der pH-Änderungen, die durch die Verdampfung bewirkt werden, eine beschleunigte Reaktion begünstigen. Diskontinuitäten der Lösungsmittelverdampfung, entweder durch Ausstoß von Ionen oder durch schlagartige Verdampfung aller (verbleibenden) Lösungsmittelmoleküle, sobald das Tröpfchen in das Vakuum der Ionenquelle gelangt, werden eine Reaktion entweder verhindern oder abbrechen, unabhängig davon, welches Stadium sie erreicht hat. Folglich wird eine kontinuierliche Desolvatisierung eine Reaktionsbeschleunigung begünstigen, während eine Diskontinuität das System in seinem aktuellen Stadium „einfriert“, ohne zur Reaktionsbeschleunigung beizutragen.

Experimente zur Reaktionsverfolgung werden unter Anwendung von Bedingungen durchgeführt, die verhindern, dass Tröpfchen eine erhebliche kontinuierliche Desolvatisierung erfahren. Stattdessen werden Tröpfchen unter Bildung lösungsmittelfreier Ionen schlagartig desolvatisiert. Es wird angenommen, dass der schnelle Desolvatisierungsvorgang nur mit leichten Störungen nichtkovalenter Wechselwirkungen einhergeht, was die Verfolgung nahezu der gesamten Reaktion ermöglicht. In typischen Experimenten zur Reaktionsverfolgung beträgt der Abstand zwischen dem Spray-Emitter und dem Einlass des Massenspektrometers etwa 2–5 mm, mit der Ausnahme, wenn anfänglich sehr kleine Tröpfchen erzeugt werden; dadurch ist keine wirksame Reaktionsbeschleunigung möglich, und die MS-Daten geben somit die Zusammensetzung des Reaktionsgemischs wieder. Das wird aus mehreren unterschiedlichen Experimenten ersichtlich, und die Gültigkeit der Schlussfolgerung wird dadurch belegt, dass alternative Verfahren zur Reaktionsverfolgung (NMR, UV/Vis, TLC)<sup>[5,8]</sup> oder andere Ionisationsmethoden<sup>[61]</sup> den gleichen Umsetzungsgrad aufzeigen.

Die Bedingungen der chemischen On-line-Analyse können so verändert werden, dass die kontinuierliche Desolvatisierung von Tröpfchen verlängert wird, damit eine beschleunigte Reaktion vor dem schlagartigen und diskontinuierlichen Desolvatisierungsvorgang in der Ionenquelle ablaufen kann. Folgende Bedingungen begünstigen die kontinuierliche Desolvatisierung der Tröpfchen: 1) Verlängerung der Verdampfungszeit durch Veränderung des Abstandes zwischen der Spray-Quelle und dem Einlass des Massenspektrometers, 2) Beschleunigung der Lösungsmittelverdampfung durch Erwärmen der Tröpfchen, 3) Veränderung der anfänglichen Tröpfchengröße bzw. des anfänglichen Tröpfchenvolumens durch Steuerung der Bedingungen der Tröpfchenbildung.

#### 4. Mechanismen der Reaktionsbeschleunigung in Tröpfchen

Die Ursachen der Reaktionsbeschleunigung in Mikrotröpfchen sind noch nicht vollständig verstanden. Reaktionen in begrenzten Volumina (Tröpfchen, dünne Filme) haben sich als viel effizienter als die im gleichen Maßstab durchgeföhrten entsprechenden Reaktionen in der Bulkphase erwiesen. Beim kontinuierlichen Übergang von der Bulkphase zu Mikrotröpfchen gibt es viele Unterschiede in den physikalischen Eigenschaften, einschließlich der stark verringerten Abmaße der Tröpfchen und ihrer erheblich vergrößerten Oberfläche. Wenn die Grenzfläche eine dominierende Rolle bei der Beschleunigung spielt, was wahrscheinlich ist (siehe Abschnitt 4.3), dann ist die Lösungsmittelbindungsenergie von Reagentien, Zwischenprodukten und Produkten von großer Bedeutung. Die Effizienz von Reaktionen in Mikrotröpfchen hängt von kumulativen Effekten und anderen Eigenschaften der Tröpfchen ab. Durch unterschiedliche Methoden gebildete Tröpfchen dürften auch unterschiedliche Eigenschaften aufweisen. Beispielsweise sind Tröpfchen vor und nach der Lösungsmittelverdampfung in unterschiedlichem Ausmaß geladen, und diese Eigenschaften sowie der innere Aufbau und die Verteilung des gelösten Stoffes auf der Oberfläche werden zur beobachteten Reaktivität beitragen.

Aus vorliegenden experimentellen Daten kann gefolgt werden, dass mehrere wesentliche Faktoren zur Reaktionsbeschleunigung beitragen: 1) Lösungsmittelverdampfung mit einer damit verbundenen Erhöhung der Reagenskonzentration, da Lösungsmittel aus den Tröpfchen entfernt wird, 2) In-situ-Acidität oder In-situ-Basizität der Tröpfchen in der Ionisationsquelle, 3) Begrenzung der Reagentien auf Reaktoren von kleinem Volumen, insbesondere die Tatsache, dass Reaktoren von kleinem Volumen ein großes Oberfläche/Volumen-Verhältnis aufweisen. Diese Faktoren werden jetzt der Reihe nach erörtert.

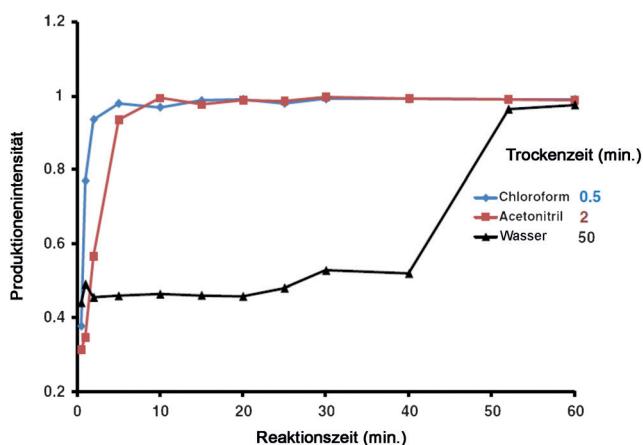
##### 4.1. Lösungsmittelverdampfung

Die kontinuierliche und schnelle Verdampfung von Lösungsmittel aus Tröpfchen führt zu steigenden Reagenskonzentrationen, wodurch die Reaktionsgeschwindigkeit erhöht wird. Das ist mit dem bekannten Konzentrationseffekt verknüpft, der im Prinzip von Le-Chatelier zusammengefasst ist. Die zur Steigerung der Geschwindigkeit von chemischen Reaktionen führende Lösungsmittelverdampfung wurde für Reaktorsysteme aus geladenen Mikrotröpfchen, die bei der reaktiven DESI,<sup>[12]</sup> beim ambivalenten Soft-Landing von Ionen,<sup>[30]</sup> in dünnen Filmen,<sup>[14b]</sup> bei der reaktiven PSI<sup>[18]</sup> und bei Experimenten der reaktiven ESI<sup>[8]</sup> erzeugt wurden, beschrieben.

Die Verdampfung hat Auswirkungen auf die Größe der Tröpfchen. Die DESI ist ein geeignetes System zur Untersuchung des Zusammenhangs zwischen Tröpfchengröße und Beschleunigung, da bei der DESI größere Tröpfchen in kleinere Tröpfchen von klar definierter Größe überführt werden.<sup>[62]</sup> Bei Experimenten der reaktiven DESI führt das Spritzen beim Auftreffen der primären Tröpfchen (3–5 µm

Durchmesser) zu sekundären Tröpfchen mit einem Anfangsdurchmesser von 0.8–1.9 µm.<sup>[12]</sup> Die räumliche Verteilung des Produkts zeigt, dass die Produktbildung auf der Zeitskala des suborbitalen Fluges dieser sekundären Tröpfchen erfolgt (Abbildung 6b, f).

Die Verdampfung führt zu höher konzentrierten Reagentien und somit zu häufigeren intermolekularen Zusammenstößen. Die Untersuchung einer Aza-Michael-Addition in einem dünnen Film in verschiedenen Lösungsmitteln (Chloroform, Acetonitril und Wasser) und der Vergleich der Ausbeuten als Funktion der Reaktionszeit zeigt, dass die Unterschiede in den Reaktionsgeschwindigkeiten qualitativ den Verdampfungsgeschwindigkeiten der jeweiligen Lösungsmittel entsprechen (Abbildung 7).<sup>[14b]</sup> In Experimenten der reaktiven PSI steht die Erhöhung der Geschwindigkeit der Produktbildung in engem Zusammenhang mit der Verweilzeit (Verdampfungszeit) des Reaktionsgemischs auf Papier.<sup>[18]</sup>



**Abbildung 7.** Produktausbeute der Aza-Michael-Addition von Morpholin mit Acrylamid (Molverhältnis 1.2:1) auf einer Oberfläche in verschiedenen Lösungsmitteln. Aus Lit. [14b] mit Genehmigung von Springer.

Vermutlich der direkteste Nachweis für das Wirken von Konzentrationseffekten bei der Erhöhung von Reaktionsgeschwindigkeiten wird durch die Untersuchung der Auswirkungen sowohl des Abstandes als auch der Temperatur auf Elektrospray-Reaktionen erbracht.<sup>[8]</sup> Die Vergrößerung des Abstandes verschafft den Tröpfchen mehr Zeit zum Verdampfen, bevor sie den Einlass des Massenspektrometers erreichen. Durch die größere Strecke, die die Elektrospray-Tröpfchen zurücklegen müssen, um zum Massenanalysator zu gelangen, verändert sich die Produktverteilung stark, wie bereits bei der Hantzsch-Reaktion erläutert. Durch die Erhöhung der Temperatur des Spray-Übertragungsrohrs wird die Verdampfung während des Tröpfchenfluges gefördert, was bei derselben Reaktion eine Abnahme der Mengen der in einem frühen Stadium gebildeten Zwischenprodukte und eine Zunahme der Mengen der in einem späten Stadium gebildeten Zwischenprodukte bewirkt.

#### 4.2. pH-Wert

Elektrochemisch induzierte Änderungen der Lösungszusammensetzung können während des ESI-Prozesses unter bestimmten Bedingungen und bei in besonderem Maße elektrochemisch aktiven Verbindungen auftreten.<sup>[63]</sup> Als Folge der elektrolytischen Oxidation von Wasser (im positiven Ionisierungsmodus) wurde eine deutliche pH-Abnahme der Bulklösung von bis zu vier pH-Einheiten beobachtet. Diese Änderung des pH-Wertes der Lösung wurde bei einer Untersuchung der Proteinfaltung genutzt,<sup>[16a,64]</sup> und sie kann erhebliche Auswirkungen auf säure- oder basekatalysierte Reaktionen haben. So konnten Banerjee und Zare<sup>[10]</sup> die säurekatalysierte Bildung von Isochinolin ohne Hinzugeben zusätzlicher Säure herbeiführen. Bei all diesen Reaktionen wurde eine Erhöhung der Geschwindigkeit um einige Zehnerpotenzen ( $10^3$ – $10^6$ ) erreicht.

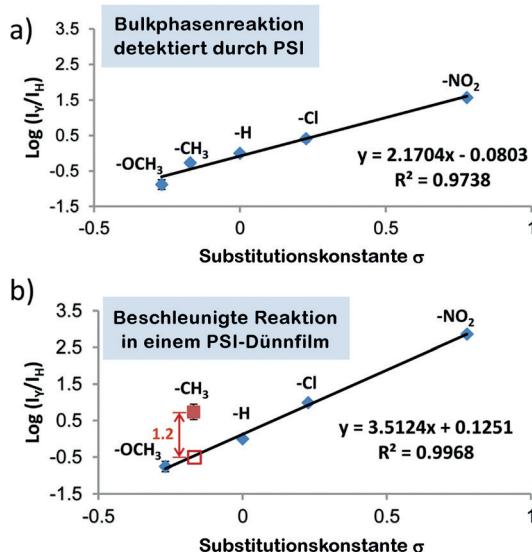
Die Verdampfung aus den Tröpfchen kann zu extremen pH-Werten führen, was eine andere Möglichkeit (als die obige elektrochemische Methode) zur Änderung des pH-Wertes darstellt. In einem DESI-Experiment mit Bulklösungsmittel mit einem pH-Wert von 3.3 hatten die auf eine Oberfläche auftreffenden primären Tröpfchen einen pH-Wert von 2.0, während die sekundären Tröpfchen an der Ansammelungsstelle einen pH-Wert von etwa 0.5 aufwiesen.<sup>[12]</sup> Die Geschwindigkeit der säurekatalysierten Reaktion von Girard-Reagens T mit Ketosteroiden erhöhte sich in positiv geladenen Mikrotröpfchen im Vergleich zur Bulklösung, und ebenso erhöhte sich die Geschwindigkeit basekatalysierter Reaktionen in den negativ geladenen Mikrotröpfchen, die in einem DESI-Experiment gebildet wurden.<sup>[12]</sup>

#### 4.3. Grenzflächenfaktoren

Es wird angenommen, dass ein weiterer wesentlicher Faktor, der höhere Reaktionsgeschwindigkeiten in kleinen Tröpfchen bewirkt, mit der Rolle der Grenzfläche verknüpft ist. Beim gleichen Lösungsmittelvolumen weisen kleinere Tröpfchen im Verhältnis zu größeren Tröpfchen insgesamt mehr Oberflächenplätze auf, auf welchen Analytmoleküle verweilen können.<sup>[19]</sup> Beim Extremfall von Reagentien mit großer Oberfläche und grenzflächenaktiven Reagentien geht eine dreidimensionale Verteilung des Reagens in eine zweidimensionale Verteilung über, wodurch die Reagenskonzentration auf oder in der Nähe von Oberflächen wirksam erhöht wird. Aus diesem Zustand, der oft als „Umschlingen“ durch das Reagens bezeichnet wird, resultieren wesentliche Auswirkungen auf die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten.<sup>[65]</sup> Selbst schwache Wechselwirkungen eines Reagens mit der Tröpfchengrenzfläche können erhebliche Auswirkungen beim Vorantreiben der Reaktivität haben. Veranschaulicht wird das durch eine Untersuchung konkurrierender Substuenteneffekte in einer Claisen-Schmidt-Kondensation, die die entscheidende Rolle der Grenzfläche bei der Beschleunigung von in dünnen Filmen oder in Tröpfchen ablaufenden Reaktionen zeigt.<sup>[17]</sup> Die beschleunigte Bildung der C-C-Bindung zwischen 6-Hydroxy-1-indanon und aromatischen Aldehyden ist das Ergebnis kooperativer Wechselwirkungen

zwischen *p*-Methylbenzaldehyd und *p*-Nitrobenzaldehyd. So wurde eine zusätzliche Beschleunigung gegenüber der von Bulkreaktionen bei *p*-Methylbenzaldehyd nur in Gegenwart von *p*-Nitrobenzaldehyd beobachtet (Abbildung 8). Das weist auf einen Begleiteffekt hin, der *p*-Methylbenzaldehyd

Solvationsenergie des Reagens auf der Oberfläche herabgesetzt wird.<sup>[66]</sup> Die Anordnung an der Grenzfläche führt zu schnelleren Reaktionen aufgrund der geringeren Desolvationsenergie, die für ein Reagens mit einer unvollständigen Lösungsmittelhülle benötigt wird. Es ist bekannt, dass die Ursache dafür, weshalb Ion-Molekül-Reaktionen in der Gasphase eine ganz andere potenzielle Energieoberfläche aufweisen als die von herkömmlichen Reaktionen in Lösung, in der Energetik der Solvatisierung liegt.<sup>[67]</sup> In Bulklösung muss eine große Solvationsenergiebarriere überwunden werden, damit Reaktionen ablaufen können, und das verlangsamt die Reaktionen erheblich. Da auf der Oberfläche der Tröpfchen angesiedelte Moleküle nur teilweise solvatisiert, aber teilweise der Luft ausgesetzt sind, ähneln die Reaktionen auf der Oberfläche kleiner Tröpfchen eher Gasphasenreaktionen. Das bedeutet, dass Analytmoleküle die Aktivierungsenergiebarriere der Reaktion leichter überwinden können. Das heißt, dass sich die nur teilweise ausgebildete Hydrathülle eines Ions auf die Aktivierungsenergie auswirken wird. Wenn die Desolvatisierung der einzige Faktor wäre, der zur Aktivierungsenergie beiträgt, dann würde, unter der weiter vereinfachenden Annahme gleicher präexponentieller Faktoren im Verhältnis der Geschwindigkeitsgleichungen monomolekularer Reaktionen, ein halbsolvatisiertes Ion an einer Grenzfläche von einem erheblichen Beschleunigungsfaktor gegenüber der Reaktion in der Bulkphase profitieren. Da Lösungsmittel verdampft, wird ein Großteil der Tröpfchenoberfläche von oberflächenaktiven Analytmolekülen eingenommen werden, unter weiterer Herabsetzung der Solvationsenergie, weil einfach weniger Lösungsmittelmoleküle vorhanden sind. Diese Faktoren liefern nicht nur eine qualitative Erklärung für die erhöhten Geschwindigkeiten von Reaktionen in kleinen Volumina; die beobachtete Reaktionskinetik bildet außerdem auch eine Grundlage für Rückschlüsse auf die Positionen verschiedener Analyte in Mikrotröpfchen. Es sollte noch erwähnt werden, dass die elektrischen Felder an stark gekrümmten Grenzflächen (kleine Tröpfchen) viel stärker sind als auf ebenen oder schwach gekrümmten Oberflächen (große Tröpfchen). Dieser Effekt, der von Zare und Mitarbeitern aufgezeigt wurde,<sup>[16a]</sup> kann für Polarisationseffekte an den Reaktanten verantwortlich sein.<sup>[67c]</sup>



**Abbildung 8.** Graphische Darstellungen der Hammett-Substitutionskonstanten konkurrierender basekatalysierter Claisen-Schmidt-Kondensationen von 6-Hydroxy-1-indanon mit *para*-substituierten Benzaldehyden ( $\gamma = \text{H, Cl, NO}_2, \text{OCH}_3, \text{CH}_3$ ): a) in der Bulkphase, nachgewiesen mittels PSI nach 20 min (Gemische wurden vor dem Nachweis um einen Faktor 30 verdünnt), b) in einer konkurrierenden beschleunigten Reaktion in einem PSI-Dünnfilm. Das rote Kästchen auf der Linie entspricht dem Wert von *p*-Methylbenzaldehyd, der Balken und die Zahl 1.2 stellen die zusätzliche Beschleunigung dar. Aus Lit. [17] mit Genehmigung von John Wiley and Sons.

beim Erreichen der Oberfläche, wo die Reaktivität hoch ist, unterstützt. Ein einfacher elektrostatischer Test wurde genutzt, um diese Wirkung zu bestätigen: Eine Abnahme des Beschleunigungsgrades wurde festgestellt, wenn elektrostatisch erzwungen wurde, dass die Reaktion im Inneren des dünnen Films abläuft. Die entsprechenden Änderungen der Hammett-Reaktionskonstanten  $\rho$  stützen die Behauptung, dass diese beschleunigten Reaktionen an der Grenzfläche stattfinden. Es wurde gezeigt, dass bei fusionierten Wassertropfchen<sup>[16a]</sup> die Verdampfung während der Flugzeit – d.h. vom Ort der Tröpfchenfusion zum Eintritt in den beheizten Kapillareinlass des Massenspektrometers – nahezu vernachlässigbar ist.<sup>[16a]</sup> Die viel schnellere Kinetik der säureinduzierten Entfaltung von Cytochrom c gegenüber der in der Bulkphase deutet darauf hin, dass die Tröpfchen/Luft-Grenzfläche eine wesentliche Rolle bei der Beschleunigung der Reaktion spielen kann.<sup>[16a]</sup>

Eine abschließende Erläuterung betrifft den Einfluss von Solvationsenergien und elektrischen Feldern auf die Reaktionsgeschwindigkeit. Neben anderen Faktoren (z.B. Verflechtung, Oberflächenaffinität) wird die Reaktionsgeschwindigkeit in kleinen Tröpfchen auch erhöht, weil die

Durch Spray-Ionisationsquellen gebildete Mikrotröpfchen sind Orte der Reaktionsbeschleunigung – ein Merkmal, das für mindestens vier Verwendungszwecke genutzt werden kann:

- 1) Durch Einbringen geeigneter Reagentien in das Spray-Lösungsmittel kann die Derivatisierung von Analyten gleichzeitig mit der Ionisation erreicht werden. Hierbei liegt der Schwerpunkt auf dem Nutzen beschleunigter Reaktionen für die Erleichterung der chemischen Analyse. Derivatisierungsreaktionen bei verschiedenen funktionellen Gruppen zur Verbesserung der Empfindlichkeit und Selektivität der ambienten Ionisation wurden in ei-

## 5. Anwendungen der Reaktionsbeschleunigung in Tröpfchen

Durch Spray-Ionisationsquellen gebildete Mikrotröpfchen sind Orte der Reaktionsbeschleunigung – ein Merkmal, das für mindestens vier Verwendungszwecke genutzt werden kann:

- 1) Durch Einbringen geeigneter Reagentien in das Spray-Lösungsmittel kann die Derivatisierung von Analyten gleichzeitig mit der Ionisation erreicht werden. Hierbei liegt der Schwerpunkt auf dem Nutzen beschleunigter Reaktionen für die Erleichterung der chemischen Analyse. Derivatisierungsreaktionen bei verschiedenen funktionellen Gruppen zur Verbesserung der Empfindlichkeit und Selektivität der ambienten Ionisation wurden in ei-

nem anderen Übersichtsartikel von 2014 zusammengefasst.<sup>[68]</sup>

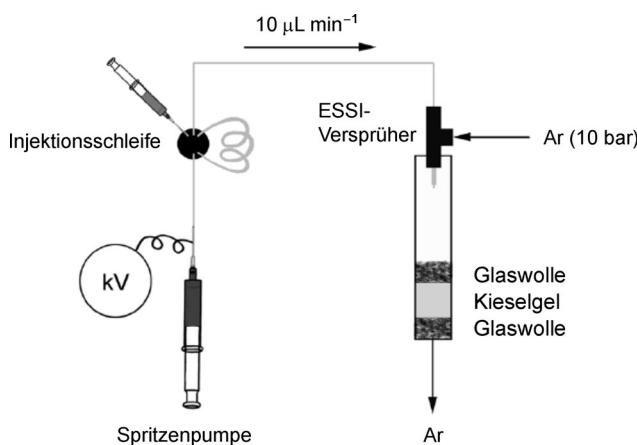
- 2) Durch Tröpfchenfusion oder Sprühen eines Reagens auf ein anderes Reagens (z.B. bei der DESI) zur Freisetzung sekundärer Tröpfchen, in denen auf dem Weg zum Einlass des Massenspektrometers Reaktionen ausgelöst werden, wird eine schnelle Reaktionskinetik erreicht, und Zwischenprodukte können auf der Millisekunden- oder Mikrosekunden-Zeitskala abgefangen werden.<sup>[16,23a]</sup> Die Strategie hierbei ist die Verkürzung der Mischzeit der Reagentien, um die zeitliche Auflösung der kinetischen Messungen bei Reaktionen in der Flüssigphase zu verbessern, und mitunter die Nutzung der erhöhten Reaktionsgeschwindigkeiten.
- 3) Durch Sprühen des Reaktionsgemisches zur Bildung von Tröpfchen bzw. zum Tropfgießen von Filmen der Reagentien kann eine Synthese aufgrund der in den kleinen Reaktorvolumina ablaufenden beschleunigten Reaktionen schnell vollzogen werden. Die Ansammlung und Charakterisierung dieser Produkte ist dann von großem Interesse als Hilfsmittel bei der Entwicklung schneller Synthesen in großem Maßstab. Die in den ESI-, ESSI- und PSI-Tröpfchen gebildeten Produkte können offline gesammelt werden. So konnte beispielsweise das Produkt aus einer basekatalysierten Claisen-Schmidt-Kondensation in mg-Mengen durch Nanosprühen eines Gemisches aus einem Indanon und einem Aldehyd unter basischen Bedingungen und Auffangen des Produkts an einer geerdeten Oberfläche gesammelt werden (Abbildung 9).<sup>[15]</sup> Die Herstellung in einer relativ kurzen Zeitspanne deutet auf das Potenzial der Anwendung der MS als schnelle präparative Methode für die Synthese hin. Darüber hinaus ist die Nutzung der Reaktionsbeschleunigung in Tröpfchen zur Herstellung von Nanomaterialien in großem Umfang ebenfalls hochinteressant.
- 4) Durch Beobachtung des chemischen Verhaltens in Mikrotröpfchen werden die Charakterisierung und grundle-

gende Untersuchungen der Chemie von Tröpfchen ermöglicht. Die ESI wird zur Analyse von Proben umfassend genutzt, seitdem Fenn<sup>[69]</sup> und andere Forscher<sup>[70]</sup> demonstriert haben, dass diese Technik die Ionisierung von sehr großen Molekülen aus Lösungen erlaubt, was sie zugänglich für die Charakterisierung mittels MS macht. Mit dieser Methode der schonenden Ionisation werden in der MS Analyten von der Lösungsphase in die Gasphase in Form von geladenen Tröpfchen überführt. Einige mit dieser Methode verbundene Grundlagen sind jedoch noch nicht vollständig verstanden, und eine große Herausforderung ist die Charakterisierung von Tröpfchen mit einer Größe unter der Beugungsgrenze, die aufgrund der schnellen Verdampfung eine ultrakurze Lebensdauer haben. Jeder dieser Faktoren erschwert die Untersuchung in diesem Regime und führt dazu, dass das Problem mit herkömmlichen Charakterisierungsmethoden schwierig zu lösen ist. Die Tatsache, dass derartige Tröpfchen eine ungewöhnliche chemische Reaktivität fördern können, deutet darauf hin, dass Informationen über die Beschaffenheit der Tröpfchen möglicherweise durch die Verfolgung ihrer chemischen Reaktionen gewonnen werden können.

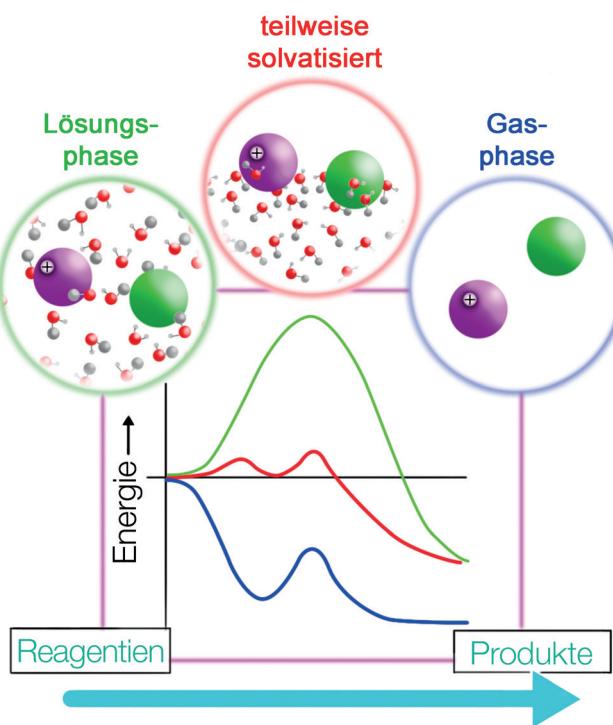
## 6. Zusammenfassung und Ausblick

In Abhängigkeit von der Reaktion und der Wahl des Lösungsmittels kann eine Reaktionsbeschleunigung immer dann beobachtet werden, wenn Tröpfchen hinreichend kleine Größe erzeugt werden (oder im Endstadium der Verdampfung von dünnen Lösungsfilmen). Die hier dokumentierten Beispiele wurden unter Bedingungen durchgeführt, die so eingestellt wurden, dass der Beschleunigungseffekt beobachtet werden konnte. Die erstaunliche Beobachtung superschneller Reaktionen in Mikrotröpfchen birgt das Potenzial, ein neues Kapitel auf dem Gebiet der organischen Synthesechemie aufzuschlagen. Selbst ohne Scale-up, das eine rasche Entwicklung erfährt, können die in Tröpfchen beobachteten Reaktionen nützlich sein für schnelle Vorhersagen des viel langsameren Verhaltens in der Bulkphase, aber auch den Zugang zu ausreichenden Mengen von Reagentien verschaffen, um den schnellen Aufbau chemischer Bibliotheken für die Substratbindung und andere Bioaktivitätstests zu ermöglichen. Die auf die Rolle der Grenzfläche in beschleunigten Reaktionen in Mikrotröpfchen gerichtete Aufmerksamkeit könnte von weiteren Untersuchungen zum Verständnis der Reaktionen an Grenzflächen profitieren oder zu diesen beitragen. Es ist nicht unbemerkt geblieben, dass Mikrotröpfchen Zellen ähneln, und auf dieser Parallele beruhende Vorstellungen zur Entstehung des Lebens,<sup>[71]</sup> die die Chiralitätsübertragung in solch einer Umgebung beinhalten<sup>[72]</sup> und sich auf beschleunigte Reaktionen in begrenzten Volumina berufen,<sup>[32,73,74]</sup> sind äußerst interessant.

Abbildung 10 vergleicht die Energien einer ionischen Reaktion mit einem neutralen Reagens für die Bulkphase, kleine Tröpfchen und freie Gasphasenspezies. Die sehr großen Unterschiede in den Reaktionsgeschwindigkeiten zwischen Bulklösung und Gasphase (Zehnerpotenzen) sind auf



**Abbildung 9.** Synthese unter Verwendung einer Elektrospray-Einrichtung, die in ein Polypropylengefäß mit einer Auffangfläche aus Glaswolle und Kieselgel ragt. An die Spritzenkanüle aus Edelstahl wurde Hochspannung angelegt, während eine geerdete Aluminiumfolie das Gefäß abdeckte. Aus Lit. [15] mit Genehmigung von John Wiley and Sons.



**Abbildung 10.** Die Reaktionsbeschleunigung an Grenzflächen hängt mit den energetischen Verhältnissen bei unvollständiger Solvatation zusammen. Ion/Molekül-Reaktionen in der Bulklösungsphase haben eine erhebliche Energiebarriere. In der Gasphase kommt es bei jedem Stoß zu einer Reaktion. Die Reaktion im Tröpfchen läuft schneller ab als in der Bulkphase und beschleunigt sich mit steigendem Oberfläche/Volumen-Verhältnis, d.h. kleiner werdenden Tröpfchen.

die Solvation zurückzuführen.<sup>[75]</sup> Kleine Tröpfchen stellen einen Zwischenfall mit teilweiser Solvation und immer noch signifikanter Beschleunigung im Vergleich zur Bulkphase dar.

Wir stellen uns vor, dass die Chemie in Mikrotröpfchen zu einem besseren Verständnis der Chemie in abgegrenzten Umgebungen, einschließlich biochemischer Prozesse in einer Zelle, führen kann.<sup>[71,76]</sup> Eine weitere Besonderheit dieser Experimente ist die Möglichkeit, aus sehr kleinen Lösungsvolumina kinetische Daten einfach und schnell zu erhalten. Aufgrund ihrer Geschwindigkeit, des hohen Informationsgehaltes und der engen Verbindung zwischen der Durchführung chemischer Reaktionen und der Analyse ihrer Produkte haben superschnelle Reaktionen in Mikrotröpfchen außerdem einen pädagogischen Wert und werden bereits in studentischen Laborpraktika gelehrt und angewendet.<sup>[11]</sup>

## Addendum

Während der Drucklegung dieses Kurzaufsatzes wurde über die Reaktionsbeschleunigung in Leidenfrost-Tröpfchen berichtet.<sup>[77]</sup> Wegen des relativ großen Volumens von Leidenfrost-Tröpfchen sind präparative Experimente (mg-Skala) einfach durchführbar. Gleiches gilt für Multiplex- und Zweiphasenexperimente, bei denen die Produktreinigung *in situ*

erfolgt. Die Tröpfchengröße verringert allerdings den Be- schleunigungsfaktor um eine Größenordnung.

## Danksagung

Wir danken dem US DOE, Office of Basic Energy Sciences, Separations and Analysis Program, (DE-FG02-06ER15807) und dem U.S. Department of Defense/DARPA (W911NF-16-2-0020) für die finanzielle Unterstützung sowie Stephen T. Ayrton für Abbildung 10.

**Zitierweise:** *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 12960–12972  
*Angew. Chem.* **2016**, *128*, 13152–13166

- [1] a) R. G. Cooks, Z. Ouyang, Z. Takats, J. M. Wiseman, *Science* **2006**, *311*, 1566–1570; b) G. A. Harris, A. S. Galhena, F. M. Fernandez, *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 4508–4538.
- [2] a) P. Chen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2832–2847; *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 2938–2954; b) C. A. Müller, A. Pfaltz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 3363–3366; *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 3411–3414.
- [3] a) L. S. Santos, G. B. Rosso, R. A. Pilli, M. N. Eberlin, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 5809–5812; b) M. N. Eberlin, *Eur. J. Mass Spectrom.* **2007**, *13*, 19–28; c) C. Vicent, M. Viciano, E. Marzal, M. Sanau, E. Peris, *Organometallics* **2006**, *25*, 3713–3720; d) F. C. C. Moura, M. H. Araujo, I. Dalmazio, T. M. A. Alves, L. S. Santos, M. N. Eberlin, R. Augusti, R. M. Lago, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2006**, *20*, 1859–1863; e) J. H. Liu, C. D. Marquez, S. T. Weintraub, P. C. Smith, *Pharm. Res.* **1998**, *15*, 343–346; f) Y. Yang, K. Janota, K. Tabei, N. Huang, M. M. Siegel, Y. I. Lin, B. A. Rasmussen, D. M. Shlaes, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 26674–26682; g) L. S. Santos, C. H. Pavam, W. P. Almeida, F. Coelho, M. N. Eberlin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 4330–4333; *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 4430–4433; h) G. W. Amarante, H. M. S. Milagre, B. G. Vaz, B. R. V. Ferreira, M. N. Eberlin, F. Coelho, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 3031–3037; i) V. Carrasco-Sánchez, M. J. Simirgiotis, L. S. Santos, *Molecules* **2009**, *14*, 3989–4021; j) B. V. Silva, F. A. Violante, A. C. Pinto, L. S. Santos, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2011**, *25*, 423–428; k) O. O. Sogbein, D. A. Simmons, L. Konermann, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2000**, *11*, 312–319; l) K. L. Vikse, Z. Ahmadi, C. C. Manning, D. A. Harrington, J. S. McIndoe, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 8304–8306; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 8454–8456; m) C. A. Marquez, F. Fabbretti, J. O. Metzger, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 6915–6917; *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 7040–7042; n) C. Iacobucci, S. Reale, J.-F. Gal, F. De Angelis, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 3065–3068; *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 3108–3111; o) J. Schulz, L. Jašková, A. Škriba, J. Roithová, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 11513–11523.
- [4] a) G. Huang, G. Li, J. Ducan, Z. Ouyang, R. G. Cooks, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 2503–2506; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 2551–2554; b) G. Huang, G. Li, R. G. Cooks, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 9907–9910; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 10081–10084.
- [5] X. Yan, E. Sokol, X. Li, G. Li, S. Xu, R. G. Cooks, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 5931–5935; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 6041–6045.
- [6] a) V. G. Santos, M. N. Godoi, T. Regiani, F. H. S. Gama, M. B. Coelho, R. de Souza, M. N. Eberlin, S. J. Garden, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 12808–12816; b) H. G. O. Alvim, G. A. Bataglion, L. M. Ramos, A. L. de Oliveira, H. C. B. de Oliveira, M. N. Eberlin, J. L. de Macedo, W. A. da Silva, B. A. D. Neto, *Tetrahedron* **2014**, *70*, 3306–3313; c) R. De Souza, E. T. da Penha, H. M. S. Milagre, S. J. Garden, P. M. Esteves, M. N. Eberlin,

- O. A. C. Antunes, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 9799–9804; d) G. A. Medeiros, W. A. da Silva, G. A. Bataglion, D. A. C. Ferreira, H. C. B. de Oliveira, M. N. Eberlin, B. A. D. Neto, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 338–340; e) C. Iacobucci, S. Reale, J.-F. Gal, F. De Angelis, *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, *2014*, 7087–7090.
- [7] H. G. O. Alvim, E. N. da Silva Júnior, B. A. D. Neto, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 54282–54299.
- [8] R. M. Bain, C. J. Pulliam, R. G. Cooks, *Chem. Sci.* **2015**, *6*, 397–401.
- [9] Die Reaktionsgeschwindigkeiten sind bezogen auf die Produktkonzentrationen pro Zeiteinheit wiedergegeben.
- [10] S. Banerjee, R. N. Zare, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 14795–14799; *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 15008–15012.
- [11] a) R. M. Bain, C. J. Pulliam, S. A. Raab, R. G. Cooks, *J. Chem. Educ.* **2015**, *92*, 2146–2151; b) R. M. Bain, C. J. Pulliam, X. Yan, K. F. Moore, T. Müller, R. G. Cooks, *J. Chem. Educ.* **2014**, *91*, 1985–1989; c) R. M. Bain, C. J. Pulliam, S. A. Raab, R. G. Cook, *J. Chem. Educ.* **2016**, *93*, 340–344.
- [12] M. Girod, E. Moyano, D. I. Campbell, R. G. Cooks, *Chem. Sci.* **2011**, *2*, 501–510.
- [13] A. Rehman, Google Patents, **2010**.
- [14] a) A. K. Badu-Tawiah, D. I. Campbell, R. G. Cooks, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2012**, *23*, 1077–1084; b) A. K. Badu-Tawiah, D. I. Campbell, R. G. Cooks, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2012**, *23*, 1461–1468.
- [15] T. Müller, A. Badu-Tawiah, R. G. Cooks, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 11832–11835; *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 12002–12005.
- [16] a) J. K. Lee, S. Kim, H. G. Nam, R. N. Zare, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2015**, *112*, 3898–3903; b) J. K. Lee, S. Banerjee, H. G. Nam, R. N. Zare, *Q. Rev. Biophys.* **2015**, *48*, 437–444.
- [17] Y. Li, X. Yan, R. G. Cooks, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 3433–3437; *Angew. Chem.* **2016**, *128*, 3494–3498.
- [18] X. Yan, R. Augusti, X. Li, R. G. Cooks, *ChemPlusChem* **2013**, *78*, 1142–1148.
- [19] A. Fallah-Araghi, K. Meguellati, J.-C. Baret, A. E. Harrak, T. Mangeat, M. Karplus, S. Ladame, C. M. Marques, A. D. Griffiths, *Phys. Rev. Lett.* **2014**, *112*, 028301.
- [20] R. D. Espy, M. Wleklinski, X. Yan, R. G. Cooks, *TrAC Trends Anal. Chem.* **2014**, *57*, 135–146.
- [21] a) A. J. Ingram, C. L. Boeser, R. N. Zare, *Chem. Sci.* **2016**, *7*, 39–55; b) C. Iacobucci, S. Reale, F. De Angelis, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 2980–2993; *Angew. Chem.* **2016**, *128*, 3032–3045; c) L. S. Santos, *J. Braz. Chem. Soc.* **2011**, *22*, 1827–1840; d) L. P. E. Yunker, R. L. Stoddard, J. S. McIndoe, *J. Mass Spectrom.* **2014**, *49*, 1–8; e) L. S. Santos, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *235*–253.
- [22] Z. Ahmadi, L. P. E. Yunker, A. G. Oliver, J. S. McIndoe, *Dalton Trans.* **2015**, *44*, 20367–20375.
- [23] a) R. H. Perry, M. Splendore, A. Chien, N. K. Davis, R. N. Zare, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 250–254; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 264–268; b) K. Chung, S. M. Banik, A. G. De Crisci, D. M. Pearson, T. R. Blake, J. V. Olsson, A. J. Ingram, R. N. Zare, R. M. Waymouth, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 7593–7602; c) A. J. Ingram, A. B. Wolk, C. Flender, J. Zhang, C. J. Johnson, U. Hintermair, R. H. Crabtree, M. A. Johnson, R. N. Zare, *Inorg. Chem.* **2014**, *53*, 423–433; d) C. Flender, A. M. Adams, J. L. Roizen, E. McNeill, J. Du Bois, R. N. Zare, *Chem. Sci.* **2014**, *5*, 3309–3314.
- [24] a) R. H. Perry, K. R. Brownell, K. Chingin, T. J. Cahill III, R. M. Waymouth, R. N. Zare, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2012**, *109*, 2246–2250; b) R. H. Perry, T. J. Cahill, J. L. Roizen, J. Du Bois, R. N. Zare, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2012**, *109*, 18295–18299; c) T. A. Brown, H. Chen, R. N. Zare, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 7274–7277; d) T. A. Brown, H. Chen, R. N. Zare, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 11183–11185; *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 11335–11337.
- [25] R. T. Collins, J. J. Jones, M. T. Harris, O. A. Basaran, *Nat. Phys.* **2008**, *4*, 149–154.
- [26] a) O. Carrier, E. Dervin, D. Funfschilling, H. Z. Li, *Microsyst. Technol.* **2015**, *21*, 499–507; b) M. Seo, C. Paquet, Z. H. Nie, S. Q. Xu, E. Kumacheva, *Soft Matter* **2007**, *3*, 986–992; c) S. K. Hsiung, C. T. Chen, G. B. Lee, *J. Micromech. Microeng.* **2006**, *16*, 2403–2410; d) T. T. Fu, Y. N. Wu, Y. G. Ma, H. Z. Li, *Chem. Eng. Sci.* **2012**, *84*, 207–217.
- [27] a) A. Wixforth, C. Strobl, C. Gauer, A. Toegl, J. Scriba, Z. von Guttenberg, *Anal. Bioanal. Chem.* **2004**, *379*, 982–991; b) S. A. Elrod, B. Hadimioglu, B. T. Khuriyakub, E. G. Rawson, E. Richley, C. F. Quate, N. N. Mansour, T. S. Lundgren, *J. Appl. Phys.* **1989**, *65*, 3441–3447; c) M. K. Li, H. S. Fogler, *J. Fluid Mech.* **1978**, *88*, 499; d) M. K. Li, H. S. Fogler, *J. Fluid Mech.* **1978**, *88*, 513; e) O. D. Kripfgans, M. L. Fabiilli, P. L. Carson, J. B. Fowlkes, *J. Acoust. Soc. Am.* **2004**, *116*, 272–281.
- [28] a) S. Gekle, J. M. Gordillo, *J. Fluid Mech.* **2010**, *663*, 293–330; b) J. M. Gordillo, S. Gekle, *J. Fluid Mech.* **2010**, *663*, 331–346.
- [29] a) D. C. Rideout, R. Breslow, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7816–7817; b) S. Narayan, J. Muldoon, M. G. Finn, V. V. Fokin, H. C. Kolb, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 3275–3279; *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 3339–3343; c) J. B. F. N. Engberts, E. Fernández, L. García-Río, J. R. Leis, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 4111–4117.
- [30] A. K. Badu-Tawiah, C. Wu, R. G. Cooks, *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 2648–2654.
- [31] H. Song, D. L. Chen, R. F. Ismagilov, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 7336–7356; *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 7494–7516.
- [32] A. Fallah-Araghi, K. Meguellati, J.-C. Baret, A. El Harrak, T. Mangeat, M. Karplus, S. Ladame, C. M. Marques, A. D. Griffiths, *Phys. Rev. Lett.* **2014**, *112*, 028301.
- [33] A. K. Badu-Tawiah, A. Li, F. P. M. Jjunju, R. G. Cooks, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 9417–9421; *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 9551–9555.
- [34] M. A. López-Quintela, C. Tojo, M. C. Blanco, L. García Rio, J. R. Leis, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2004**, *9*, 264–278.
- [35] G. A. Groß, H. Wurziger, G. Schlingloff, A. Schober, *QSAR Comb. Sci.* **2006**, *25*, 1055–1062.
- [36] A. J. deMello, *Nature* **2006**, *442*, 394–402.
- [37] a) J. J. Agresti, E. Antipov, A. R. Abate, K. Ahn, A. C. Rowat, J. C. Baret, M. Marquez, A. M. Klibanov, A. D. Griffiths, D. A. Weitz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, *107*, 4004–4009; b) J. Y. Wang, G. D. Sui, V. P. Mocharla, R. J. Lin, M. E. Phelps, H. C. Kolb, H. R. Tseng, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5276–5281; *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 5402–5407.
- [38] B. Zheng, C. J. Gerdts, R. F. Ismagilov, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2005**, *15*, 548–555.
- [39] E. Eriksson, J. Scrimgeour, A. Graneli, K. Ramser, R. Wellander, J. Enger, D. Hanstrup, M. Goksor, *J. Opt. A* **2007**, *9*, S113–S121.
- [40] Y. P. Bai, E. Weibull, H. N. Joensson, H. Andersson-Svahn, *Sens. Actuators B* **2014**, *194*, 249–254.
- [41] a) S. Juul, Y. P. Ho, J. Koch, F. F. Andersen, M. Stougaard, K. W. Leong, B. R. Knudsen, *ACS Nano* **2011**, *5*, 8305–8310; b) E. Polshin, B. Verbruggen, D. Witters, B. Sels, D. De Vos, B. Nicolai, J. Lammertyn, *Sens. Actuators B* **2014**, *196*, 175–182; c) C. Tesouro, R. Fröhlich, M. Stougaard, Y.-P. Ho, B. R. Knudsen in *Single Cell Protein Analysis: Methods and Protocols*, Bd. 1346 (Hrsg.: A. K. Singh, A. Chandrasekaran), Humana Press, Totowa, **2015**, S. 209–219.
- [42] a) L. de Stefano, E. Orabona, A. Lamberti, I. Rea, I. Rendina, *Sens. Actuators B* **2013**, *179*, 157–162; b) Y. Huang, B. Agrawal, D. D. Sun, J. S. Kuo, J. C. Williams, *Biomicrofluidics* **2011**, *5*, 17.
- [43] A. Yildirim, M. Yunusa, F. E. Ozturk, M. Kanik, M. Bayindir, *Adv. Funct. Mater.* **2014**, *24*, 4569–4576.
- [44] X. F. Sun, K. Q. Tang, R. D. Smith, R. T. Kelly, *Microfluid. Nanofluid.* **2013**, *15*, 117–126.

- [45] S. Y. Teh, R. Lin, L. H. Hung, A. P. Lee, *Lab Chip* **2008**, *8*, 198–220.
- [46] K. S. Suslick, *Science* **1990**, *247*, 1439–1445.
- [47] R. Breslow, *Acc. Chem. Res.* **1991**, *24*, 159–164.
- [48] J. J. Gajewski, *Acc. Chem. Res.* **1997**, *30*, 219–225.
- [49] a) Z. Takáts, J. M. Wiseman, B. Gologan, R. G. Cooks, *Science* **2004**, *306*, 471–473; b) Z. Takáts, J. M. Wiseman, R. G. Cooks, *J. Mass Spectrom.* **2005**, *40*, 1261–1275.
- [50] H. Chen, I. Cotte-Rodriguez, R. G. Cooks, *Chem. Commun.* **2006**, 597–599.
- [51] Z. Takáts, J. M. Wiseman, B. Gologan, R. G. Cooks, *Anal. Chem.* **2004**, *76*, 4050–4058.
- [52] H. Chen, A. Venter, R. G. Cooks, *Chem. Commun.* **2006**, 2042–2044.
- [53] C. Wu, W. F. Siems, H. H. Hill, *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 396–403.
- [54] D.-Y. Chang, C.-C. Lee, J. Shiea, *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 2465–2469.
- [55] Z. Miao, H. Chen, P. Liu, Y. Liu, *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 3994–3997.
- [56] a) A. Li, Z. Baird, S. Bag, D. Sarkar, A. Prabhath, T. Pradeep, R. G. Cooks, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 12528–12531; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 12736–12739; b) A. Li, Q. Luo, S.-J. Park, R. G. Cooks, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 3147–3150; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 3211–3214.
- [57] H. Wang, J. Liu, R. G. Cooks, Z. Ouyang, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 877–880; *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 889–892.
- [58] R. Qiu, H. Luo, *RSC Adv.* **2015**, *5*, 96213–96221.
- [59] H.-Y. Wang, J.-T. Zhang, S.-H. Sun, S.-S. Zhang, F. Zhang, H. Zhu, Y.-L. Guo, *RSC Adv.* **2015**, *5*, 105079–105083.
- [60] L. Konermann, E. Ahadi, A. D. Rodriguez, S. Vahidi, *Anal. Chem.* **2013**, *85*, 2–9.
- [61] A. J. Ingram, D. Solis-Ibarra, R. N. Zare, R. M. Waymouth, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 5648–5652; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 5754–5758.
- [62] A. Venter, P. E. Sojka, R. G. Cooks, *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 8549–8555.
- [63] G. J. Van Berkel, F. Zhou, J. T. Aronson, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **1997**, *162*, 55–67.
- [64] a) L. Konermann, E. A. Silva, O. F. Sogbein, *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 4836–4844; b) P. Pan, H. P. Gunawardena, Y. Xia, S. A. McLuckey, *Anal. Chem.* **2004**, *76*, 1165–1174.
- [65] J. Song, R. H. Ewoldt, W. Hu, H. Craig Silvis, C. W. Macosko, *AICHE J.* **2011**, *57*, 3496–3506.
- [66] a) S. Vaitheeswaran, D. Thirumalai, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 13490–13496; b) D. Hagberg, S. Brdarski, G. Karlström, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 4111–4117.
- [67] a) P. Kebarle, G. W. Dillow, K. Hirao, S. Chowdhury, *Faraday Discuss.* **1988**, *85*, 23–35; b) D. Oancea, A. Raducan, *Rev. Roum. Chim.* **1997**, *42*, 849–854; c) A. C. Aragonès, N. L. Haworth, N. Darwish, S. Ciampi, N. J. Bloomfield, G. G. Wallace, I. Diez-Perez, M. L. Coote, *Nature* **2016**, *531*, 88–91.
- [68] R. D. Espy, M. Wleklinski, X. Yan, R. G. Cooks, *TrAC Trends Anal. Chem.* **2014**, *57*, 135–146.
- [69] a) M. Yamashita, J. B. Fenn, *J. Phys. Chem.* **1984**, *88*, 4451–4459; b) J. B. Fenn, M. Mann, C. K. Meng, S. F. Wong, C. M. Whitehouse, *Science* **1989**, *246*, 64–71.
- [70] a) S. K. Chowdhury, V. Katta, B. T. Chait, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1990**, *4*, 81–87; b) R. D. Smith, J. A. Loo, R. R. O. Loo, M. Busman, H. R. Udseth, *Mass Spectrom. Rev.* **1991**, *10*, 359–451; c) N. B. Cech, C. G. Enke, *Mass Spectrom. Rev.* **2001**, *20*, 362–387.
- [71] a) C. M. Dobson, G. B. Ellison, A. F. Tuck, V. Vaida, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 11864–11868; b) A. Tuck, *Surveys Geophys.* **2002**, *23*, 379–409.
- [72] K. J. Koch, F. C. Gozzo, S. C. Nanita, Z. Takats, M. N. Eberlin, R. G. Cooks, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1721–1724; *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 1797–1800.
- [73] A. P. Minton, G. Rivas, *Biochemical Reactions in the Crowded and Confined Physiological Environment: Physical Chemistry Meets Synthetic Biology*, Springer, New York, **2011**.
- [74] K. Moskitch: <http://www.rsc.org/chemistryworld/2014/01/origin-life-begun-earth-tiny-water-droplet-synthetic-chemistry>, **2014**.
- [75] M. L. Chabiny, S. L. Craig, C. K. Regan, J. I. Brauman, *Science* **1998**, *279*, 1882–1886.
- [76] S. Mann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 155–162; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 166–173.
- [77] R. M. Bain, C. J. Pulliam, F. Thery, R. G. Cooks, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, DOI: 10.1002/anie.201605899; *Angew. Chem.* **2016**, *128*, DOI: 10.1002/ange.201605899.

Eingegangen am 4. März 2016

Online veröffentlicht am 17. August 2016

Übersetzt von Kerstin Mühle, Chemnitz