

Kronenether-Komplexe in der Gasphase: von der molekularen Erkennung von Aminen bis zur kovalenten Verknüpfung von Wirt- und Gastmolekülen**

Mathias Schäfer*

Stichwörter:

Kronenverbindungen · Massenspektrometrie · Molekulare Erkennung · Supramolekulare Chemie

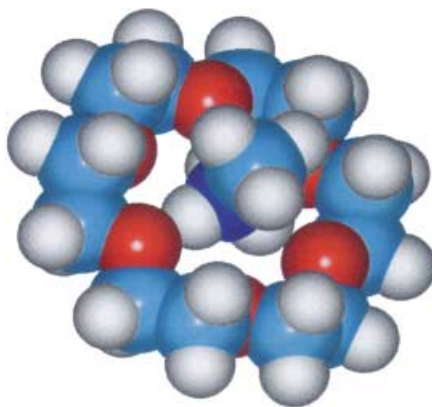
Professor Jesse L. Beauchamp
zum 60. Geburtstag gewidmet

Kronenether bilden in Lösung mit unterschiedlichen Gastmolekülen Komplexe,^[1] die unter anderem bei der Synthese supramolekularer Verbindungen wie Rotaxanen und Dendrimeren genutzt werden.^[2] Um solche nichtkovalent verknüpften Chelat-Komplexe in der Gasphase zu studieren, auch um molekulare Erkennungsprozesse zu untersuchen,^[3] ist eine sanfte Ionisationsmethode nötig, die eine schonende Desolvatation und einen möglichst fragmentierungsfreien Phasentransfer gewährleistet. Seit 1988 steht mit der von John Fenn eingeführten Elektrospray-Ionisation (ESI), für die ihm 2002 der Nobel-Preis für Chemie verliehen wurde, eine ausgezeichnete Methode zur Verfügung, die sich bei der Untersuchung vieler verschiedener supramolekularer Verbindungen bewährt hat.^[4]

Molekulare Erkennung von primären Aminen und Peptiden durch [18]Krone-6-Ether

Die Komplexe von [18]Krone-6-Ethern (18K6) mit Metall-Kationen,^[5] Ammonium-^[6] und Alkylammonium-Ionen^[7] wurden eingehend in der Gasphase untersucht. Wie sich zeigt, ist

18K6 besser als andere Kronenether für die Bindung von primären Aminen^[8] geeignet, da die passende Größe der Cavität und die coplanare Anordnung dreier alternierender Sauerstoffatome die Bildung von drei stabilen Wasserstoffbrücken ermöglicht.^[6,8b,9] Um dies zu verdeutlichen ist in Abbildung 1 die nichtkovalente Wechselwirkung zwischen dem Methylammonium-Ion und 18K6 dargestellt. Für diesen Komplex wurde mit PM3-semiempirischen Rechnungen eine bemerkenswert hohe Dissoziationsenergie von 182 kJ mol^{-1} ermittelt.^[8a]



2

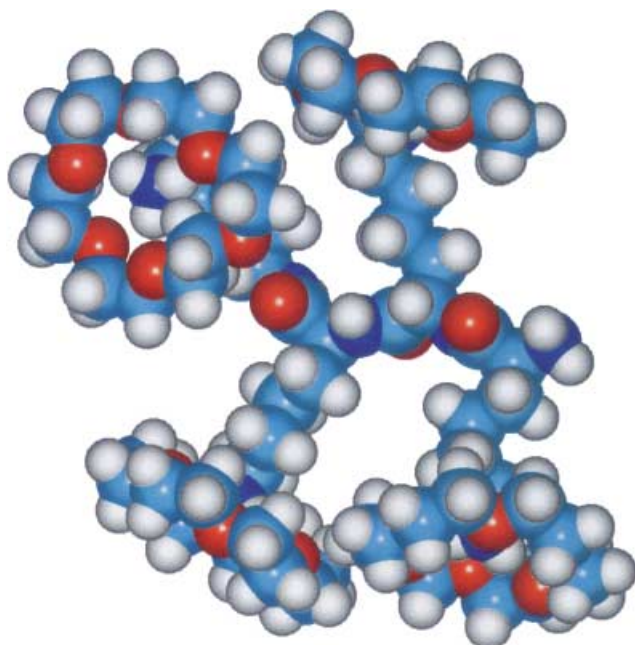
Abbildung 1. Die Modellstruktur 2 zeigt die nichtkovalente Wechselwirkung zwischen einem Methylammonium-Ion und dem [18]Krone-6-Ether (18K6). Drei alternierende coplanare Sauerstoffatome (rot) von 18K6 sind über drei Wasserstoffbrücken an den Stickstoff (dunkelblau) gebunden. Die Molekülstruktur wurde durch Dichtefunktionalrechnungen auf B3LYP-Niveau mit dem 6-31G**-Basissatz ermittelt.^[8a]

Die besonders starke Bindung von 18K6 zu primären Aminen konnten Julian et al. durch ESI-Massenspektrometrie experimentell zeigen. Das Modellpeptid Tetralysin (KKKK) wurde in Abwesenheit und in Gegenwart von 18K6 untersucht.^[8a] Im ersten Fall findet man im ESI-Massenspektrum von Tetralysin einfach, zweifach und dreifach protonierte Molekül-Ionen. Nach Zugabe von 18K6 zur Lösung von Tetralysin zeigt das ESI-Massenspektrum mit höchster Intensität ein vierfach geladenes Komplex-Ion mit der Zusammensetzung $[(KKKK + 4H)(18K6)_4]^{4+}$. Offensichtlich hat die Komplexbildung mit vier 18K6-Molekülen die Ladungsverteilung entscheidend beeinflusst. Wegen der effektiven Abschirmung der protonierten δ -Aminofunktionen der Lysinreste durch jeweils ein Molekül 18K6 ist die freie Solvationsenergie des Komplexes deutlich reduziert, wodurch der ESI-MS-Phasentransfer aus der Lösung in die Gasphase begünstigt wird. Wie das Molekülmodell zeigt, sind die Lysinseitenketten ausreichend flexibel, um im betrachteten Komplex $[(KKKK + 4H)(18K6)_4]^{4+}$ auch vier Kronenethermoleküle nebeneinander anordnen zu können (Molekülstruktur 3 in Abbildung 2).^[8a]

Die Anwendbarkeit der bevorzugten Komplexierung von primären Aminen durch 18K6 zur selektiven Bestimmung der Zahl an Lysin-Einheiten in Peptiden mit unbekannter Aminosäuresequenz ist durch die konkurrierende Bildung anderer Addukte von 18K6, z. B. mit protonierten Seitenketten der basischen Aminosäuren Histidin und Arginin sowie des N-Terminus, einge-

[*] Dr. M. Schäfer
Institut für Organische Chemie
Universität zu Köln
Greinstraße 4, 50939 Köln (Detuschland)
Fax: (+49) 221-470-3064
E-mail: mathias.schaefer@uni-koeln.de

[**] Der Autor dankt Ryan R. Julian und Professor Jesse L. Beauchamp für die Bereitstellung der Original-Abbildungen.



3

Abbildung 2. Modellstruktur **3** des Tetralysinpeptids KKKK mit vier assoziierten 18K6-Molekülen. Die Seitenketten der Lysinreste sind hinreichend flexibel, um vier 18K6-Molekülen die Komplexbildung mit den protonierten δ -Aminofunktionen zu ermöglichen. Die Molekülstruktur wurde mit Dichtefunktionalrechnungen auf B3LYP-Niveau mit dem 6-31G**,-Basissatz ermittelt.^[8a]

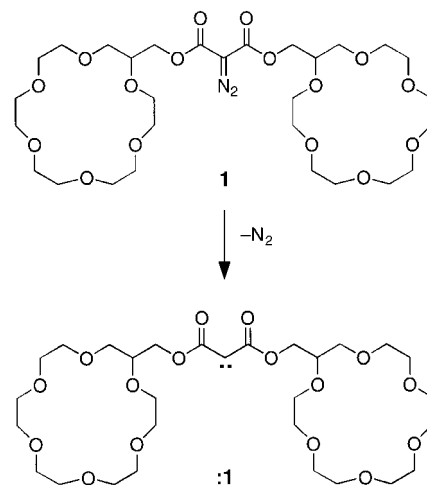
schränkt. Allerdings kann 18K6 als empfindliche Sonde zur Detektion von Konformationsänderungen in Proteinen und Peptiden eingesetzt werden, da durch die 18K6-Komplexierung eine denaturierte Konformation über eine längere Zeitspanne konserviert werden kann.^[8a] Auch bei der zweifelsfreien tandemmassenspektrometrischen Bestimmung des Ladungszustands von Proteinen unbekannter Molekülmasse finden 18K6-Komplexe eine nützliche Anwendung.^[10] Überdies ermöglicht die starke Abschirmung labiler Protonen durch die Komplexbildung mit 18K6 die Untersuchung des H/D-Austausch-Mechanismus von protonierten Modellpeptiden, was anhand von Glycin-Oligomeren gezeigt werden konnte.^[7a, 11]

Molekulare Mausefallen

Die starke Wechselwirkung von 18K6 mit primären Aminen haben Julian et al. genutzt, um eine kontrollierte intermolekulare kovalente Kupplungsreaktion zwischen Wirt- und Gastmolekül in der Gasphase zu initiieren.^[12] Dies gelang durch Stoßaktivierung des Di-

azomalonsäurediesters von 18K6-Methanol (**1**; Schema 1), wobei diese Vorstufe für die Tandem-MS-Experimente sehr treffend als molekulare Mausefalle bezeichnet wurden.

Für die ESI-MS-Messungen wurde eine Lösung aus 1,6-Diaminohexan (DAH) und **1** hergestellt. Neben dem einfach geladenen 1:1-Komplex [**1** + DAH + H]⁺ tritt im ESI-Massenspektrum mit hoher Intensität ein Signal des



Schema 1. Die Diazo-Vorstufe **1** wird durch Stoßaktivierung (kollisionsinduzierte Dissoziation, CID) mit He-Atomen in einer Quadrupol-Ionenfalle in das entsprechende Carben **:1** umgewandelt ($\Delta m = 28u$).^[12]

entsprechenden zweifach protonierten Komplexes [**1** + DAH + 2H]²⁺ auf (Abbildung 3 und 4a). Dieses Ion wird in einer Quadrupol-Ionenfalle isoliert und anschließend durch Niedrigenergie-Stoßaktivierung mit dem Kollisionsgas Helium (kollisionsinduzierte Dissoziation, CID)^[13] zur Fragmentierung oder Reaktion angeregt (MS/MS-Spektrum; Abbildung 4b). Wie der fast ausschließliche Verlust von 28u (N₂) belegt, wird die Diazo-Funktion des Wirtmoleküls **1** im Komplex [**1** + DAH + 2H]²⁺ effektiv in das entsprechende, reaktive und kurzlebige Carben (**:1**) überführt (Schema 1). Das Produkt-Ion [**:1** + DAH + 2H]²⁺ dieses Experiments wird

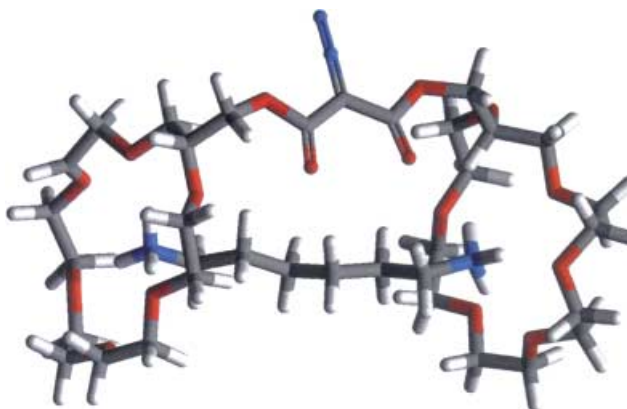


Abbildung 3. Modellstruktur des nichtkovalenten Komplexes [**1** + DAH + 2H]²⁺ aus dem Wirtmolekül **1** und dem zweifach protonierten Gast 1,6-Diaminohexan (DAH) in der Gasphase. Die Struktur wurde durch semiempirische Rechnungen mit HyperChem 5.1 auf Basis des PM3-Parametersatzes modelliert.^[12]

anschließend auch isoliert und wiederum durch Stöße aktiviert, um das Reaktionsprodukt oder die Reaktionsprodukte des Carbens zu untersuchen (MS/MS/MS-Spektrum; Abbildung 4c). Man findet hauptsächlich Fragmentierungen von **1** (Fragmente A, B, C, D im MS/MS/MS-Spektrum; Abbildung 4c). Diese Fragmentierungen ohne augenscheinlichen Verlust des Diaminohexans belegen eine kovalente Wirt-Gast-Verknüpfung. Dabei ist eine C-H-Insertion des Carbens wahrscheinlicher als eine N-H-Insertion, da die beiden Ammoniumfunktionen des Gastmoleküls DAH fest von den 18K6-Ethergruppen gebunden sind. Allerdings findet man auch den Zerfall des Komplexes, zu sehen an der Bildung des einfach protonierten Produkt-Ions $[\text{DAH} + \text{H}]^+$,

der durch eine konkurrierende intramolekulare Reaktion des Carbens erklärt werden kann (MS/MS/MS-Spektrum; Abbildung 4c).

Der einfach geladene Komplex $[\mathbf{1} + \text{DAH} + \text{H}]^+$ aus **1** und DAH kann ebenfalls durch sequenzielle Produkt-Ionen-Experimente in der Ionenfalle untersucht werden. Nach Isolierung und Stoßaktivierung wird der entsprechende Carben-Komplex $[\mathbf{1} + \text{DAH} + \text{H}]^+$ gebildet (MS/MS-Spektrum; Abbildung 5a). Zudem findet man einen Verlust von 294u, wahrscheinlich durch Abspaltung von Hydroxymethyl-18K6 (Abbildung 5a und b). Das MS/MS/MS-Spektrum, Abbildung 5c, zeigt die Fragmente des Ions $[\mathbf{1} + \text{DAH} + \text{H} - 294]^+$, welches nur noch über eine Krone verfügt. Der Zerfall der verblie-

benen Krone (Verlust von 28u = CO und 44u = $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ -Fragmente) ohne den Verlust des Gastmoleküls – das Molekül-Ion des protonierten Diaminohexans wird hier nicht beobachtet – belegen überzeugend, dass eine neue intermolekulare kovalente Bindung zwischen Wirt und Gast gebildet worden sein muss. In diesem Fall ist eine C-H- oder auch eine N-H-Insertion des Carbens möglich. Diese Resultate vermitteln somit ein vielversprechendes Konzept für eine supramolekular vermittelte Bildung kovalenter Bindungen in der Gasphase und zeigen eine neuartige Strategie zur selektiven Detektion von Lysin in Peptiden oder Proteinen durch reaktive molekulare Mausefallen.^[12]

Die für dieses Highlight ausgewählten Forschungsergebnisse belegen am

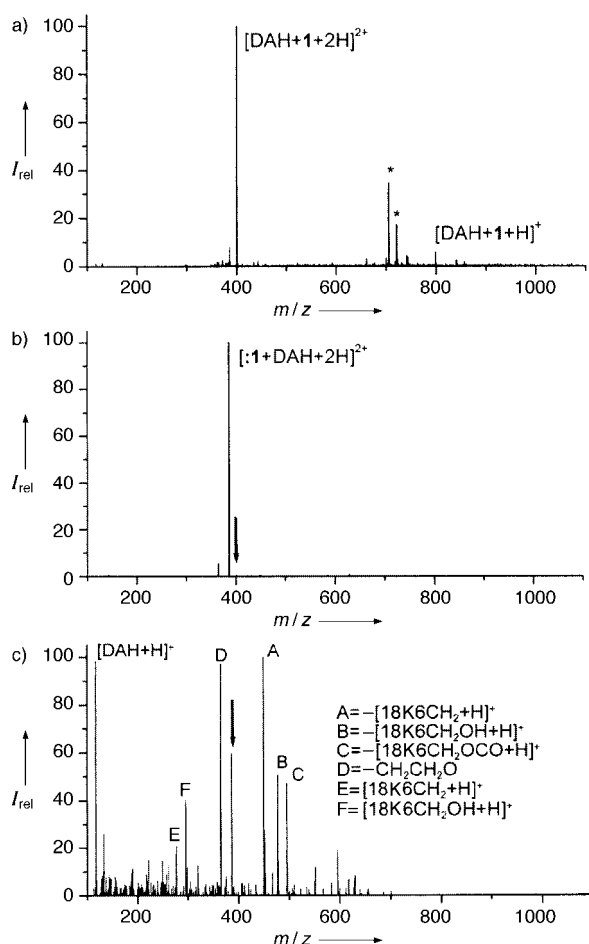


Abbildung 4. a) ESI-Massenspektrum von **1** und DAH (*: $[\mathbf{1} + \text{Alkalimetall}]^+$ -Addukt-Signale). b) MS/MS-Spektrum von $[\mathbf{1} + \text{DAH} + 2\text{H}]^{2+}$; der fast ausschließliche Verlust von 28u belegt die Bildung des Carbens (**1**) durch Abspaltung von N_2 . c) MS/MS/MS-Spektrum von $[\mathbf{1} + \text{DAH} + 2\text{H}]^{2+}$. Die senkrecht nach unten gerichteten Pfeile markieren das für die Tandem-MS-Experimente gewählte Signal. I_{rel} = relative Intensität.^[12]

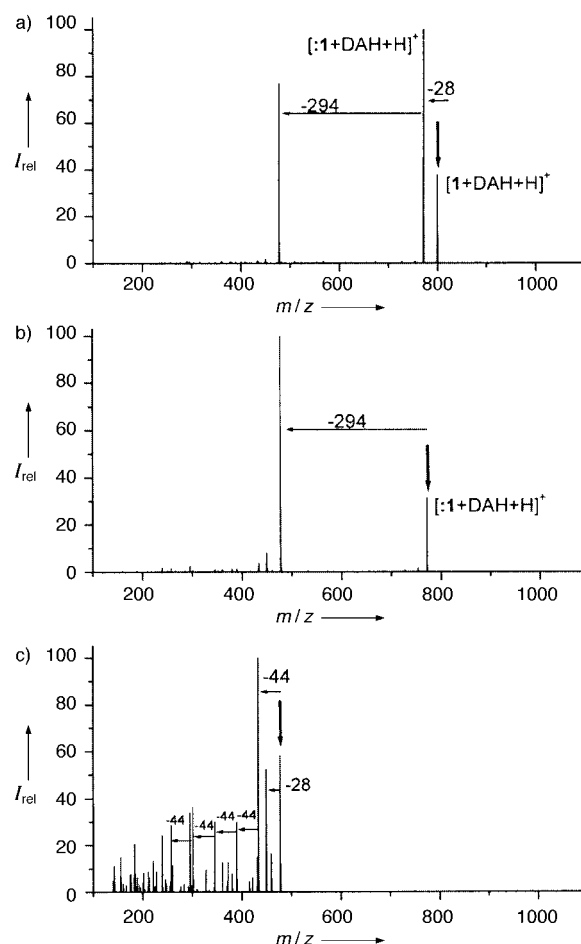


Abbildung 5. a) MS/MS-Spektrum von $[\mathbf{1} + \text{DAH} + \text{H}]^+$; der Verlust von 294u entspricht rechnerisch der Abspaltung von Hydroxymethyl-18K6; siehe auch Abbildung 5b. b) MS/MS/MS-Spektrum von $[\mathbf{1} + \text{DAH} + \text{H}]^+$. c) MS/MS/MS-Spektrum von $[\mathbf{1} + \text{DAH} + \text{H} - 294]^+$. Die senkrecht nach unten gerichteten Pfeile markieren das für die Tandem-MS-Experimente gewählte Signal.^[12]

Beispiel der Kronenether-Komplexe die hervorragende Eignung der ESI und der Tandem-Massenspektrometrie für die Aufklärung von Wirt-Gast- und Ionen-Molekül-Wechselwirkungen in der Gasphase. Es sei in diesem Zusammenhang gestattet, dem interessierten Leser die Lektüre weiterer instruktiver Arbeiten zu empfehlen: so die Diskussion elementarer Aspekte der Elektrospray-Ionisation,^[8a] des H/D-Austauschs und der CID-Fragmentierungen von Peptiden^[7a] anhand des Studiums entsprechender 18K6-Komplexe.

-
- [1] M. Hiraoka, *Crown Compounds: Their Characteristics and Applications*, Elsevier Scientific, New York, **1982**.
- [2] a) M. C. T. Fyfe, J. F. Stoddart, *Acc. Chem. Res.* **1997**, *30*, 393–401; b) H. W. Gibson, N. Yamaguchi, L. Hamilton, J. W. Jones, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 4653–4665; c) D. N. Reinhoudt, M. Crego-Calama, *Science* **2002**, *295*, 2403–2407.
- [3] M. W. Peczu, A. D. Hamilton, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 2479–2494.
- [4] a) M. Vincenti, *J. Mass Spectrom.* **1995**, *30*, 925–939; b) J. A. Loo, *Mass Spectrom. Rev.* **1997**, *16*, 1–23; c) C. A. Schalley, *Int. J. Mass Spectrom.* **2000**, *194*, 11–39; d) C. A. Schalley, *Mass Spectrom. Rev.* **2001**, *20*, 253–309.
- [5] M. B. More, D. Ray, P. B. Armentrout, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 417–423.
- [6] S. Maleknia, J. S. Brodbelt, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 2837–2843.
- [7] a) S.-W. Lee, H.-N. Lee, H. S. Kim, J. L. Beauchamp, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 5800–5805; b) B. L. Williamson, C. S. Creaser, *Int. J. Mass Spectrom.* **1999**, *188*, 53–61.
- [8] a) R. R. Julian, J. L. Beauchamp, *Int. J. Mass Spectrom.* **2001**, *210/211*, 613–623; b) C.-C. Liou, H.-F. Wu, J. S. Brodbelt, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1994**, *5*, 260–273.
- [9] M. Meot-Ner, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 4912–4915.
- [10] J. B. Cuniff, P. Vouros, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1995**, *6*, 1175–1182.
- [11] a) S. Campbell, M. T. Rodgers, E. M. Marzluff, J. L. Beauchamp, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 9765–9766; b) S. Campbell, M. T. Rodgers, E. M. Marzluff, J. L. Beauchamp, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 12840–12854.
- [12] R. R. Julian, J. A. May, B. M. Stoltz, J. L. Beauchamp, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 1042–1045; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 1012–1015.
- [13] a) J. C. Schwartz, I. Jardine, *Methods Enzymol.* **1996**, *270*, 552–586; b) R. N. Hayes, M. L. Gross, *Methods Enzymol.* **1990**, *193*, 237–263; c) R. E. March, *J. Mass Spectrom.* **1997**, *32*, 351–369.
-