



0040-4039(94)01703-4

NEUE FLUORESCENZSONDEN ZUR BESTIMMUNG DER KRITISCHEN MICELL-KONZENTRATION OBERFLÄCHEN- AKTIVER VERBINDUNGEN

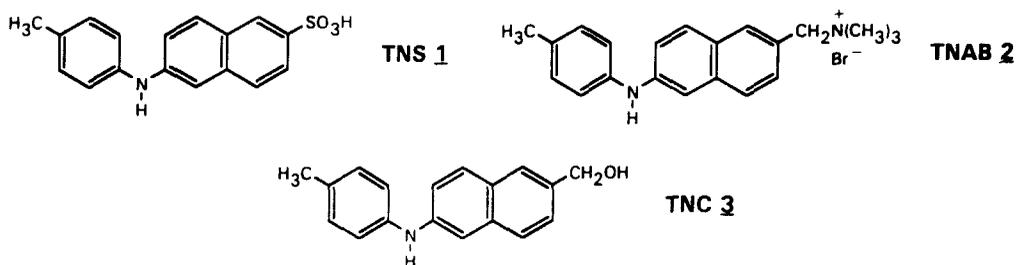
Dieter Heini und Jürgen Sauer *

Institut für Organische Chemie der Universität Regensburg,
D-93040 Regensburg, Germany

Abstract: The synthesis of two new fluorescent probes, TNAB **2** and TNC **3**, is reported, which can be used to determine the critical micellization concentration of surfactants.

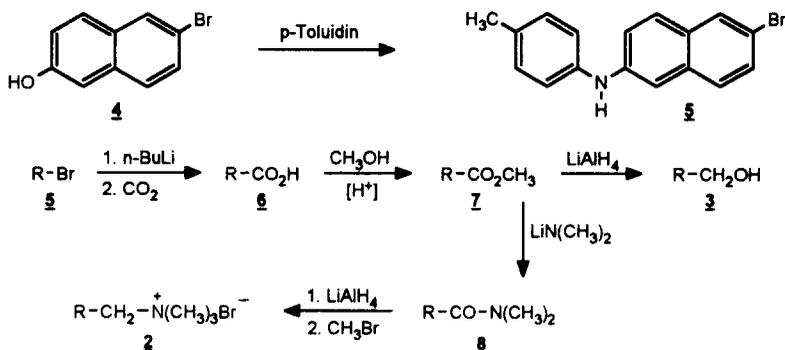
Oberflächenaktive Verbindungen besitzen großes praktisches und theoretisches Interesse ¹⁾. In Abhängigkeit von ihrer Struktur bilden sie Micellen, Filme oder Membranen ²⁾. Die Micellbildung ist durch diejenige Konzentration charakterisiert, bei der sich die Einzelmoleküle zu höheren Aggregaten mit Aggregationszahlen von 50-100 zusammenlagern. Die Bestimmung dieser sogenannten kritischen Micellkonzentration (CMC) gelingt durch eine Reihe physikalischer Meßmethoden, z. B. Messungen der Oberflächenspannung, der Leitfähigkeit, Gefrierpunktniedrigung bzw. Dampfdruckerniedrigung. Gegenüber diesen ohne Additiven arbeitenden Meßmethoden, verwendet die sogenannte Sondentechnik Zusätze von Verbindungen, deren spektrale Eigenschaften sich bei der CMC spontan ändern. Unter den Fluoreszenzsonden ist sicherlich 6-p-Toluidinonaphthalin-2-sulfonsäure (**1**; TNS) die bekannteste, die auch beim Studium von konformativer Beweglichkeit von Proteinen Verwendung fand ³⁾.

Die anionische Sonde TNS **1** zeigt gegenüber kationischen Detergentien das Phänomen der prämicellaren Aggregation ⁴⁾, welches die CMC-Messung empfindlich stört. Unser Interesse an thermischen ⁵⁾ und photochemischen ⁶⁾ Reaktionen in Micellen sowie an kationischen Detergentien ⁷⁾ hat uns veranlaßt, dem TNS analog gebaute kationische und ungeladene Fluoreszenzsonden zu synthetisieren. Wir berichten über die Synthese von [(6-p-Toluidino-2-naphthyl)-methyl]-trimethylammoniumbromid (**2**; TNAB) und [6-p-Toluidino-2-naphthyl]-carbinol (**3**; TNC) und ihre Eignung als Fluoreszenzsonden bei CMC-Messungen.



6-Brom-2-naphthol **4** ließ sich bei 215 °C mit p-Toluidin in **5** umwandeln (63%) ⁸⁾. Halogen-Metall-Austausch mit n-BuLi bei -70 °C in THF mit anschließender Carboxylierung führte zur Carbonsäure **6** (65%), die sich über den Methylester **7** (94%) in das Dimethylamid **8** (80-90%) und durch Reduktion mit LiAlH₄ (80%) und anschließende Methylierung (47%) in TNAB **2** umwan-

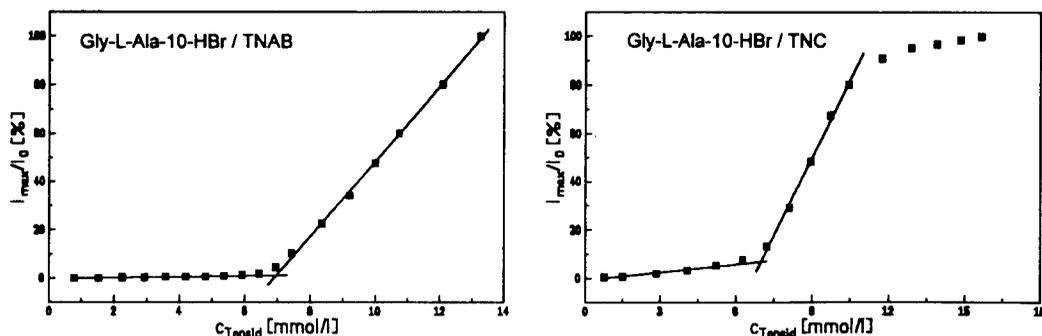
dein ließ. TNC **3** war durch Reduktion des Esters **7** (83%) oder der Carbonsäure **6** (40%) zugänglich.



Die Tabelle bietet die von uns mit Hilfe der Tensiometrie sowie der Fluoreszenzsonden TNS **1**, TNAB **2** und TNC **3** für kationische, anionische und ungeladene Detergentien ermittelten CMC-Werte. Hinsichtlich der Detergentien haben wir eine möglichst große strukturelle Variation durchgeführt und für unsere Untersuchungen verwendet:

- Salze von Aminosäureestern langkettiger Alkohole (Nr. 1-3).
- Salze von Dipeptidestern langkettiger Alkohole (Nr. 4-6; Gly = Glycin, Ala = Alanin).
- Salze von primären Aminen (Nr. 7, 8), sekundären (Nr. 14) und tertiären Aminen (Nr. 15) sowie quartären Ammoniumsalzen aliphatischer Amine (Nr. 9-13, 16).
- N-Alkylpyridinium-Salze (Nr. 17-22).
- Anionische oberflächenaktive Verbindungen (Nr. 23-26) und
- Triton X-100 (Nr. 27) als Vertreter der Gruppe der ungeladenen Detergentien.

Abbildung: Fluorimetrische Titrationskurven von Glycyl-L-alanin-decylester-hydrobromid (Gly-L-Ala-10-HBr) mit TNAB **2** und TNC **3**



Für die fluorimetrische Bestimmung der CMC-Werte wurden TNS **1** und TNAB **2** in ca. 10^{-5} molarer Lösung eingesetzt; für TNC kam eine gesättigte wässrige Lösung (ca. $4 \cdot 10^{-8}$ [mol/l]) zur Anwendung. Die Abbildung gibt die Titrationskurven für Glycyl-L-alanin-decylester-hydrobromid

mit TNAB **2** und TNC **3** als Fluoreszenzsonden wieder. Es zeigt sich eindeutig, daß bei Verwendung ionischer Sonden für kationische Detergentien nur mit der kationischen Sonde TNAB **2**, für anionische Detergentien nur mit der anionischen Sonde TNS **1** korrekte CMC-Werte ermittelt werden konnten, die mit den tensiometrischen CMC-Werten übereinstimmen. Bei Verwendung von ionischen Detergentien und Fluoreszenz-Sonden mit gegensinniger Ladung verhindern offensichtlich Aggregationsphänomene eine erfolgreiche Messung (nb = nicht bestimmbar). Die ungeladene Fluoreszenzsonde TNC **3** eignet sich für CMC-Messungen unabhängig vom Ladungszustand des Detergens.

Tabelle: CMC-Messungen (Angaben der CMC-Werte in mmol/l) mit unterschiedlichen Meßmethoden: Tensiometrie bzw. verschiedenen Fluoreszenzsonden [TNS **1**, TNAB **2** und TNC **3**]

Micellbildner	Tensio- metrie	Fluorimetrie			
		TNC 3	TNAB 2	TNS 1	
Kationische Amphiphile					
1	Glycin-octylester-hydrochlorid	91,6	89,1	88,2	nb ^{a)}
2	Glycin-decylester-hydrochlorid	19,1	-	22,5	nb
3	Glycin-dodecylester-hydrochlorid	3,84	-	4,22	nb
4	Gly-L-Ala-octylesterhydrobromid	27,3	-	31,8	nb
5	Gly-L-Ala-decylesterhydrobromid	6,22	6,93	6,89	nb
6	Gly-L-Ala-dodecylesterhydrobromid	0,96	-	1,00	nb
7	Decylammoniumchlorid	60,0	60,9	58,8	nb
8	Dodecylammoniumchlorid	12,2	-	12,9	nb
9	Decyltrimethylammoniumchlorid	79,2	-	71,7	nb
10	Dodecyltrimethylammoniumchlorid	17,8	-	19,1	nb
11	Tetradecyltrimethylammoniumchlorid	5,09	-	5,42	nb
12	Hexadecyltrimethylammoniumchlorid	1,38	-	nb	nb
13	Hexadecyltrimethylammoniumbromid	0,89	0,91	nb	nb
14	Dodecylmethylammoniumchlorid	12,7	-	13,4	nb
15	Dodecylmethylammoniumchlorid	11,1	-	13,7	nb
16	Hexadecylbenzylmethylammoniumchlorid	0,36	0,25	0,21	nb
17	N-Decylpyridiniumchlorid	38,6	-	nb	nb
18	N-Dodecylpyridiniumchlorid	9,54	-	nb	nb
19	N-Tetradecylpyridiniumchlorid	2,22	-	nb	nb
20	N-Hexadecylpyridiniumchlorid	0,89	^{b)}	nb	nb
21	4-Undecylpyridiniumchlorid	0,05	-	nb	nb
22	N-Dodecyl- α -picoliniumbromid	7,39	nb	nb	nb
Anionische Amphiphile					
23	Natriumdodecylsulfat (SDS)	7,20	7,46	nb	7,80
24	Natriumdecylsulfonat	31,7	41,1	nb	39,7
25	Natriumchololat	7,83	7,78	7,08	8,56
26	Natriumlaurat	7,20	^{c)}	nb	26,2
Nichtionisches Amphiphil					
27	Triton X-100	0,28	0,23	0,22	0,24

^{a)} nb = CMC mit dieser Fluoreszenzsonde nicht bestimmbar. ^{b)} Minimum im Bereich der CMC. ^{c)} Maximum im Bereich der CMC.

Alle Versuche, für N-Alkylpyridinium- und -picolinium-salze CMC-Werte mit einer der drei Fluoreszenzsonden zu bestimmen, wurden durch Fluoreszenz-Löschung vereitelt.

Bei Natriumlaurat traten vorerst noch nicht erklärbare Diskrepanzen zwischen den durch Tensiometrie und mit Hilfe von TNS bestimmten CMC-Werten auf. Interessanterweise werden bei Natriumcholat mit allen Sondentypen CMC-Werte erhalten, die dem tensiometrischen Meßwert entsprechen.

Die bis jetzt vorliegenden Untersuchungen empfehlen TNAB **2** zur Bestimmung der CMC-Werte kationischer und ungeladener Detergentien; TNC **3** eignet sich als Fluoreszenzsonde unabhängig vom Ladungszustand des Detergens.

Über weitere Untersuchungen, insbesondere auch Studien zum Nachweis prämicellarer Aggregate, wird in Kürze berichtet.

Danksagung: Der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem Fonds der Chemischen Industrie und der BASF-AG danken wir herzlich für finanzielle Unterstützung.

Literatur und Bemerkungen

Herrn Professor Dr. C. Rüchardt mit besten Wünschen zum 65. Geburtstag gewidmet.

- 1) Mattay, J.: *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **1986**, *4*, 318. Dort weitere Literatur.
- 2) Turro, N.J., Cox, G.S. und Paczkowski, M.A.: *Photochemistry in Micelles, Topics in Current Chemistry* 129, Springer Verlag, Berlin 1985. Mittal, K. und Lindman, B. ed.: *Surfactants in Solution*, Vol. 1-3, Plenum Press, New York 1984. Kunitake, T. und Shinkai, S.: *Catalysis by Micelles, Membranes and other Aggregates as Models of Enzyme Actions, Adv. Phys. Org. Chem.* **1980**, *17*, 435. Turro, N.J., Grätzel, M. und Braun, A.M.: *Angew. Chem.* **1980**, *92*, 712. Menger, F.M.: *Acc. Chem. Res.* **1979**, *12*, 111. Fendler, J. H.: *Acc. Chem. Res.* **1976**, *9*, 153. Fendler, J.H. und Fendler, E.J.: *Catalysis in Micellar and Macromolecular Systems*, Academic Press, New York 1975.
- 3) Brand L. und Gohlke, J.R.: *Annu. Rev. Biochem.* **1972**, *41*, 843.
- 4) Nag, A. und Bhattacharyya, K.: *J. Photochem. Photobiol.* **1989**, *47*, 97. Niu, S., Gopidas, K.R., Turro, N.J. und Gabor, G.: *Langmuir* **1992**, *8*, 1271.
- 5) Braun, R., Schuster, F. und Sauer, J.: *Tetrahedron Lett.* **1986**, 1285. Singer, R., Eibler, E. und Sauer, J.: *Tetrahedron Lett.* **1982**, 1135.
- 6) Mayer, H. und Sauer, J.: *Tetrahedron Lett.* **1983**, 4091.
- 7) Dissertation T. Schwaiger, Univ. Regensburg **1990**. Dort frühere Literatur.
- 8) Alle in dieser Publikation beschriebenen Verbindungen zeigten strukturkonforme Spektren und korrekte Werte bei der Elementaranalyse. TNAB (**2**): Schmp. 194-195°C. IR (KBr): 3420, 3060, 3010, 2990, 2950, 2920, 2830, 1640, 1610, 1520, 1540, 1490, 1320, 1260, 1190, 890, 880 cm⁻¹. ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ = 2,28 (s, 3H), 3.11 (s, 9H), 4.70 (s, 2H), 7.16 (s, 4H), 7.34 - 7.93 (m, 6H), 8,56 (s, 1H). UV (EtOH) λ[nm] (lg ε): 223 (4.688), 274 (4.444), 321 (3.862). C₂₁H₂₅BrN₂ [385.4] Ber.: C 65.46, H 6.54, N 7.27, Br 20.74. Gef.: C 65.41, H 6.48, N 7.35, Br 20.78. TNC (**3**): Schmp. 154-155,5°C, IR (KBr): 3420, 3290, 3070, 3040, 2930, 2880, 1640, 1610, 1515, 1500, 1320, 1190, 1050, 1035, 875, 820 cm⁻¹. ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ = 2.25 (s, 3H), 4.60 (d, 2H), 5.21 (t, 1H), 7.11 (s, 4H), 7.21 - 7,74 (m, 6H), 8,23 (s, 1H). UV (EtOH) λ[nm] (lg ε): 221 (4.764); 270 (4.391); 309 (4.378). C₁₈H₁₇NO (263.3) Ber: C 82.10, H 6.51, N 5.32. Gef.: C 81.95, H 6.57, N 5.33.