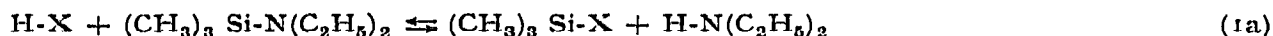


## Siliciumorganische Verbindungen

### 30. Mitt. Zur Darstellung von Trimethylsilylverbindungen für gaschromatographische Untersuchungen\*

Viele Substanzen, die aufgrund von Wasserstoffbrückenbindungen und des daraus resultierenden niedrigen Dampfdruckes schwer flüchtig sind, werden in Form ihrer Alkyl-, Acyl- oder Trimethylsilylderivate gaschromatographierbar. In zunehmendem Masse findet der Trimethylsilylrest für die Substitution der aktiven Protonen in HO-, HS- und HN-Funktionen Verwendung. Verschiedene Autoren berichten über die Gaschromatographie von silylierten Phenolen<sup>1</sup>, Phenolcarbonsäuren<sup>2</sup>, Carbonsäuren des Krebscyclus<sup>3</sup>, Zucker<sup>4</sup>, Aminosäuren<sup>5</sup>, Steroiden<sup>6</sup> und Phenolalkylaminen<sup>7</sup>. Die Darstellung erfolgte analog der Silylamin-Amin-Austauschreaktion von LARSSON UND SMITH<sup>8</sup>, meist mit Diäthyl-trimethylsilylamin oder Hexamethyldisilazan als Silylgruppendonatoren (Gleichung 1). Zum Teil wurden Trimethylchlorsilan oder andere Lewis-Säuren als Katalysatoren zugegeben.

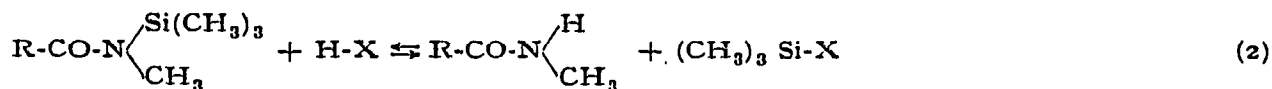


X = Verbindungen mit HO-, HN- oder HS-Funktionen

Während HO-Funktionen nach Gleichung 1a bzw. 1b relativ glatt in Trimethylsilyläther bzw. -ester umgewandelt werden, sind die Vorschriften zur Silylierung von Aminen und Aminosäuren umständlich und langwierig. Dies ergibt sich sowohl aus der relativ geringen Reaktionsgeschwindigkeit der Komponenten<sup>9</sup>, als auch aus der Notwendigkeit, das Gleichgewicht durch Entfernen des Diäthylamins bzw. des Ammoniaks in der gewünschten Richtung zu verschieben.

Um für ein analytisches Verfahren bei milden Reaktionsbedingungen zu möglichst kurzen Reaktionszeiten zu kommen, setzten wir N-Trimethylsilyl-amide ein, die nach den in unserem Arbeitskreis gemachten Erfahrungen<sup>10</sup> stärkere Silylierungsmittel als die Trimethylsilyl-amine sind. Aus der Vielzahl der bekannten Silylamide wählten wir N-Trimethylsilyl-N-methyl-acetamid und N-Trimethylsilyl-N-methylformamid<sup>11</sup> für unsere Versuche. Beide Verbindungen sind bei Zimmertemperatur flüssig, wodurch eine bequeme Handhabung und bei quantitativen Analysen eine genaue Dosierung ermöglicht wird. Gleichzeitig entfällt der Gebrauch eines Lösungsmittels. Der hohe Siedepunkt der beiden Verbindungen unter Normaldruck erlaubt es, bei den zur Reaktion notwendigen niedrigen Temperaturen diese in Teströhrchen durchzuführen. Bei Anwendung eines genügend grossen Reagenzüberschusses entsteht innerhalb weniger Minuten – meist bei Zimmertemperatur, in einigen Fällen nach gelindem Erwärmen – eine homogene Lösung, die ohne weitere Operationen zur Gaschromatographie verwendet werden kann. Der Überschuss an Silylierungsmittel verhindert eine Hydrolyse. Die Reaktion mit protonenaktiven Verbindungen lässt sich durch folgende Gleichung beschreiben:

\* 29. Mitteilung: L. BIRKOFER, A. RITTER UND H. VERNALEKEN, *Chem. Ber.*, im Druck.

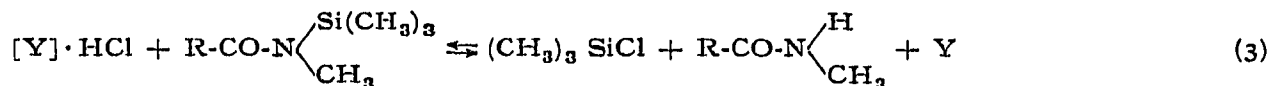


R = CH<sub>3</sub>

R = H

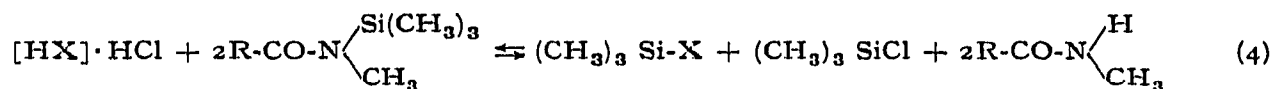
X = Verbindungen mit HO-, HN- oder HS-Funktionen

Die Hydrochloride von Aminen und Aminosäuren reagieren zunächst in Umkehrung der Bildungsgleichung der silylierten Amide:



Y = Amin oder Aminosäure

Primäre und sekundäre Amine sowie Aminosäuren werden dann nach Gleichung 2 silyliert, so dass insgesamt folgende Reaktion abläuft:



HX = Prim. oder sek. Amin

HX = Aminosäure

Untersuchungen über die Lage der Gleichgewichte bei den Reaktionen 2 und 4 und über deren Kinetik, sowie über den Einfluss von Katalysatoren sind noch nicht abgeschlossen<sup>13</sup>. Die gaschromatographischen Befunde, die wir nach Variation der Temperatur und der Menge des Silylierungsmittels erhalten haben, lassen eine quantitative Umsetzung innerhalb weniger Minuten vermuten. Um einen Überblick über die Anwendungsbreite dieses Verfahrens zu erhalten, untersuchten wir nach der im experimentellen Teil angegebenen Standardmethode eine Reihe von Verbindungen: Phenolcarbonsäuren, gesättigte Fettsäuren, Polyalkohole, Zucker, Phenolalkylamine, freie Amine und freie Aminosäuren, sowie deren Hydrochloride. Synthetische Mischungen von Substanzen der oben genannten Klassen lassen sich erwartungsgemäss trennen (siehe Fig. 1 und 2). Bei quantitativer Auswertung lagen die Ergebnisse innerhalb der bei gaschromatographischen Arbeiten üblichen Fehlergrenzen.

Anwendungsmöglichkeiten für dieses Verfahren sehen wir vor allem bei der qualitativen und quantitativen Analyse geringer Substanzmengen, wie sie z.B. nach der Aufarbeitung von biologischem Material anfallen. Die Ergebnisse entsprechender Untersuchungen werden zu gegebener Zeit veröffentlicht.

### Experimentelles

1–2 mg der zu untersuchenden Substanz wurden in einem Teströhrchen (innerer Durchmesser 3–4 mm) mit 100 µl N-Methyl-N-trimethylsilylacetamid bzw. -formamid versetzt. War nach 5 min Schütteln bei Zimmertemperatur die Verbindung nicht gelöst, so erwärmte man auf 60–100°, wobei sich alle unten aufgeführten Verbindungen umsetzten.

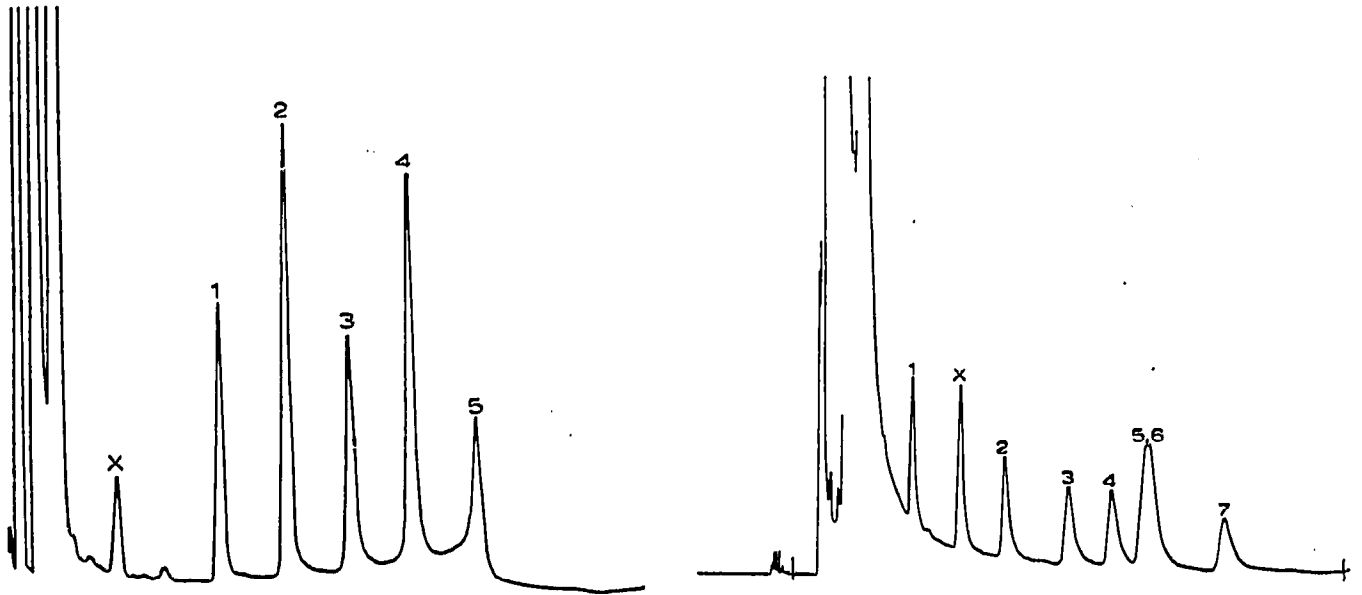


Fig. 1. Gaschromatogramm von Fettsäuresilylester: 1 = 10:0, 2 = 12:0, 3 = 14:0, 4 = 16:0, 5 = 18:0; X = unbekannte Verunreinigung aus dem Silylierungsmittel. Bedingungen: siehe experimenteller Teil.

Fig. 2. Gaschromatogramm silylierter Aminosäuren (0.1 proz. Lösung der Hydrochloride in N-Methyl-N-trimethylsilyl-acetamid). 1 = Ala, 2 = Val, 3 = Leu, 4 = Ileu, 5 = Gly, 6 = Prol, 7 = Thre, X = siehe Fig. 1. Bedingungen: Makro-Golay-Säule 4 G 1 der Firma Bodenseewerk, Perkin-Elmer & Co. GmbH. 25 ml He/Min., 135° isotherm, Flammenionisations-Detektor 300°, Einspritzblock 280°.

Als Standardbedingungen für die gaschromatographische Untersuchung der Silylierungsprodukte auf Einheitlichkeit wählten wir folgende Anordnung:

Gaschromatograph: Modell 810-12 R der Firma F & M Scientific GmbH Karlsruhe

Säule: Silicongummi SE 30, 20% auf Chromosorb, 1.2 m  $\times$  1/4 in. äusserer Durchmesser

Temperaturen: Einspritzblock ca. 300°, Detektor 350°, Ofen programmiert von 175°-300° mit einer Anstiegsrate von 15° pro Min.

Trärgas: Helium; 40 ml pro Min.

Detektor: wahlweise Flammenionisations-Detektor oder Wärmeleitfähigkeits-Detektor

Die folgenden Verbindungen ergaben nach dem oben beschriebenen Verfahren ein einheitsliches Signal:

(a) L-Aminosäuren: Gly, Ala, Val, Leu, Ileu, Prol, Phe, Cys-SH, Meth, His, Lys, Asp, Glu, Ser, Thre, Tyr, Hypro

(b) Fettsäuren: 6:0, 8:0, 10:0, 12:0, 14:0, 16:0, 18:0; 16:1<sup>0</sup>, 18:1<sup>0</sup>, 18:2<sup>0,12</sup>, 18:3<sup>0,12,15</sup>, 20:4<sup>5,8,11,14</sup>

(c) Polyalkohole: Glykol, Glycerin, Propandiol-1,2 und -1,3, Erythrit, Butantriol-1,2,3

(d) Zucker: Glucose, Rhamnose, Ribose, Galaktose (hierbei trat in gewissem Umfang Konfigurationsumkehr am C-1 ein, die durch Zugabe von (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> SiCl oder BF<sub>3</sub> auf ca. 5% beschränkt werden konnte),  $\alpha$ -Methylglucosid,  $\beta$ -Methylrhamnosid

- (e) Amine und Aminhydrochloride: Methyl-, Dimethyl-, Äthyl-, Diäthyl-, Propyl-amin; Ephedrin, Norephedrin, Amphetamin, Pervitin  
 (f) Phenolalkylamine: Adrenalin, Noradrenalin, Tyramin, Dopamin.

*Institut für Organische Chemie der Universität Köln  
 (Deutschland)*

LEONHARD BIRKOFER  
 MANFRED DONIKE

- 1 R. W. FREEDMAN UND P. P. CROITORU, *Anal. Chem.*, 36 (1964) 1880;  
 A. SATO UND E. V. RUDLOFF, *Can. J. Chem.*, 42 (1964) 635.
- 2 Z. HORII UND M. MAKITA, *Chem. Pharm. Bull. (Tokio)*, 13 (1965) 636; *C.A.*, 63 (1965) 7633.
- 3 Z. HORII, M. MAKITA UND Y. TAMURA, *Chem. Ind. (London)*, (1965) 1494.
- 4 C. C. SWEELEY, R. BENTLEY, M. MAKITA UND W. W. WELLS, *J. Am. Chem. Soc.*, 85 (1963) 2497.
- 5 E. D. SMITH UND H. SHEPPARD, *Nature*, 208 (1965) 878.
- 6 B. G. CREECH, *J. Gas Chromatog.*, 2 (1964) 194.
- 7 S. LINDSTEDT, *Clin. Chim. Acta*, 9 (1964) 309.
- 8 E. LARSSON UND B. SMITH, *Acta Chem. Scand.*, 3 (1949) 487.
- 9 J. F. KLEBE, *J. Am. Chem. Soc.*, 86 (1964) 3399.
- 10 L. BIRKOFER, A. RITTER UND F. BENTZ, *Chem. Ber.*, 97 (1964) 2196.
- 11 *U.S. Pat.*, 2876234, 3. März 1959; *C.A.*, 53 (1959) 12238.

Eingegangen den 27. Mai 1966

*J. Chromatog.*, 26 (1967) 270-273

### **A column-switching technique for the analysis of mixtures of fluorocarbons labelled with a short lived isotope\***

The technique of temperature-programmed gas chromatography is now well established as a means of separating mixtures of components with widely differing boiling points (see for example ref. 1). However, when performing repeated analyses on a series of samples there is inevitably some delay between runs while the column oven is being brought back to the starting temperature.

During work recently performed in these laboratories it was necessary to separate and assay a series of mixtures of  $\text{CF}_3^{18}\text{F}$ ,  $\text{CH}_3^{18}\text{F}$ ,  $\text{C}_2\text{H}_3^{18}\text{F}$  and  $\text{CF}_2^{18}\text{FI}$ . The relatively short half-life (112 min) and the trace amounts of the samples involved demanded that these analyses be performed as speedily as possible.

The separation of  $\text{CF}_4$ ,  $\text{C}_2\text{H}_3\text{F}$  and  $\text{CF}_3\text{I}$  presents no problem since the substances have widely differing retention volumes on an 8-m silicone oil column containing 40 g/100 g oil/firebrick run at 25°. However, under these conditions  $\text{CH}_3\text{F}$  and  $\text{C}_2\text{H}_3\text{F}$  are only slightly resolved. Even a polar column such as de-activated alumina (25°) failed to provide a suitable separation.

A column combination which did prove to be successful was the 8-m silicone oil column (25°) coupled in series with a similar 5-m hexamethylphosphoramide (HMP)/firebrick column operating at 0°. Unfortunately it appeared that the trace quantities of  $\text{CF}_3\text{I}$  present in the mixture were irreversibly adsorbed on the latter column. The

\* Work performed at the Sterling Chemistry Laboratory, Yale University, New Haven, Conn., U.S.A., under the auspices of the United States Atomic Energy Commission Contract No. SAR/AT (30-1) 1957, to whom grateful acknowledgement is made.