

CHROM. 3646

Gas-chromatographische Untersuchung von C-Acylmalonestern

Bei den zur Zeit am hiesigen Institut laufenden Untersuchungen an C-Acylmalonestern, über die noch später ausführlich berichtet werden wird, ist das Problem aufgetaucht, eine Methode zur Reinheitsprüfung der genannten Verbindungen zu finden.

Da alle gas-chromatographischen Versuche mit Stahlsäulen und oberflächenaktiven Trägermaterialien das gleiche Ergebnis, nämlich vollständige Zersetzung der im Titel genannten Ester, liefern, wird das Augenmerk auf Glassäulen und Glaskugeln als Trägermaterial gerichtet¹.

Herstellung der Trennsäule

Belegungen mit verschiedenen stationären Phasen zeigen, dass SE-52 für die Lösung des aufgetauchten Problems am besten geeignet ist. Dabei hat sich eine Vorbehandlung von Säule und Trägermaterial durch Waschen mit HCl und HF und anschließendes Silanisieren mit Dimethyl-dichlorsilan als vorteilhaft erwiesen. Man spült dazu die leere Säule mit einer Mischung aus Toluol und 10% Silan und saugt anschließend trocken. Beim Belegen der Glaskugeln werden der Lösung der stationären Phase ebenfalls 5% Silan zugesetzt.

Ist bereits eine in der üblichen Weise gefüllte Glassäule vorhanden, so kann sie durch mehrmaliges Einspritzen von Dimethyldichlorsilan nachbehandelt werden².

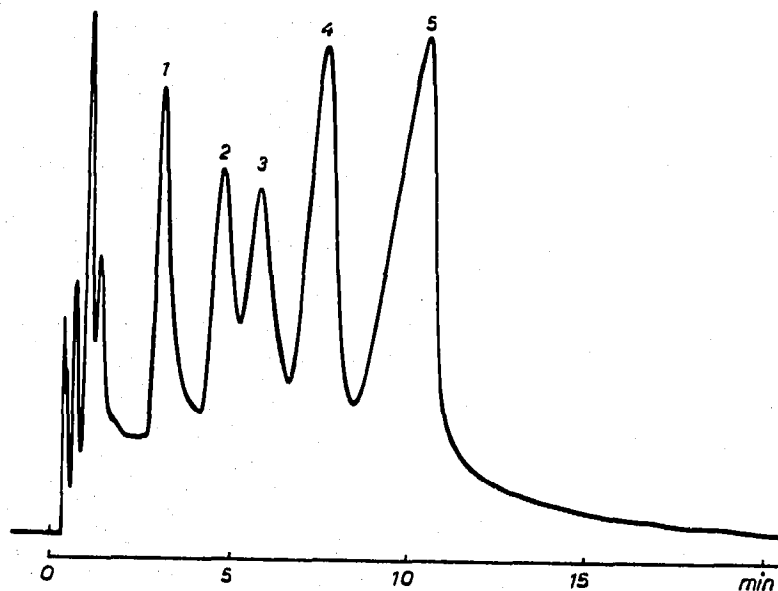


Fig. 1. Chromatogramm verschiedener C-Acylmalonester. Probenvolumen 0.7 μ l; Ofentemperatur 125°; Glassäule 150 cm; Durchmesser 0.4 cm; Säulenfüllung 0.2% SE-52 auf Glaskugeln Durchmesser 0.19–0.20 mm; Säule und Trägermaterial behandelt mit HCl/HF und Dimethyldichlorsilan; Trägergas 29 ml/min N₂; FID Empfindlichkeit \times 1000. Bezeichnung der Peaks: 1 = C-Acetylmalonester; 2 = C-Propionylmalonester; 3 = C-Isobutyrylmalonester; 4 = C-n-Butyrylmalonester; 5 = Enolacetat des C-Acetylmalonesters.

Anwendung

Die Zersetzung der Proben lässt sich auch mit diesen Säulen nicht restlos unterbinden, kann aber durch Variieren von Temperatur und Säulenlänge soweit reduziert werden, dass eine Identifizierung und Reinheitsprüfung der C-Acylmalonester erfolgreich durchführbar ist.

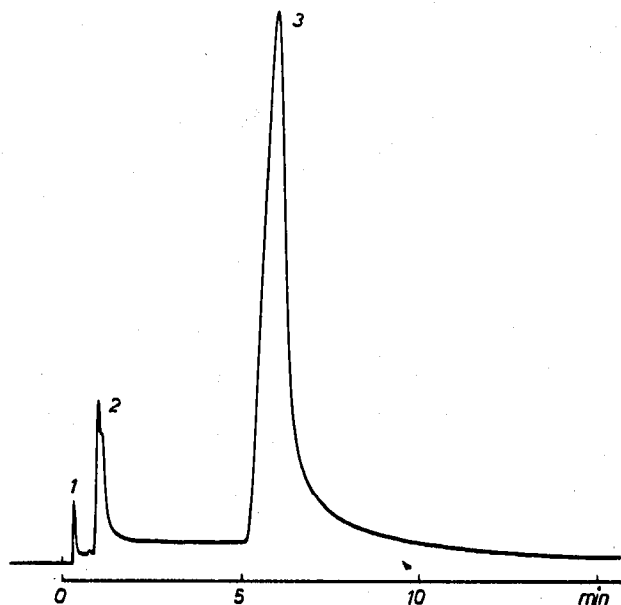


Fig. 2. Chromatogramm von C-Isobutyrylmalonester. Probenvolumen $0.1 \mu\text{l}$; übrige Bedingungen wie bei Fig. 1. Bezeichnung der Peaks: 1 und 2 = Verunreinigungen; 3 = C-Isobutyrylmalonester.

Das Chromatogramm in Fig. 1 zeigt die Trennung eines Gemisches aus mehreren C-Acylmalonestern. Der letzte Peak entspricht dem Enolacetat des C-Acetylmalonesters, das bei der Darstellung des letztgenannten als Nebenprodukt erhalten wird. Die kurz nach der Front auftretenden Peaks stammen von Verunreinigungen, die bereits in den einzelnen Ausgangsprodukten der Mischung vorliegen.

Am Beispiel des Isobutyrylmalonesters (Fig. 2) sollen die Verhältnisse bei der Trennung genauer besprochen werden. Peak 1 und 2 zeigen die schon erwähnten Verunreinigungen an. Peak 3 ist dem unzersetzten Ester zuzuordnen. Der Nulllinien-

TABELLE I

ZUSAMMENHANG ZWISCHEN ZERSETZUNGSGRAD UND VERWEILZEIT AM BEISPIEL DES C-PROPIONYLMALONESTERS BEI 125°

| Verweilzeit (min) | Unzersetzter Anteil (%) |
|----------------------|-------------------------------|
| 1.2 | 94.25 |
| 3.7 | 78.09 |
| 5.5 | 62.96 |
| 12.6 | 43.96 |

versatz zwischen Peak 2 und 3 wird durch einen Zersetzungsvorgang verursacht, dem alle untersuchten C-Acylmalonester während des Wanderns durch die Trennsäule unterliegen. Der Grad dieser Zersetzung hängt von Temperatur und Verweilzeit in der Trennsäule ab.

Zur Reinheitsprüfung verkürzt man daher die Säule—und damit die Verweilzeit—soweit, dass noch eine ausreichende Trennung von Verunreinigung und Hauptsubstanz gewährleistet ist (siehe Fig. 3a und b).

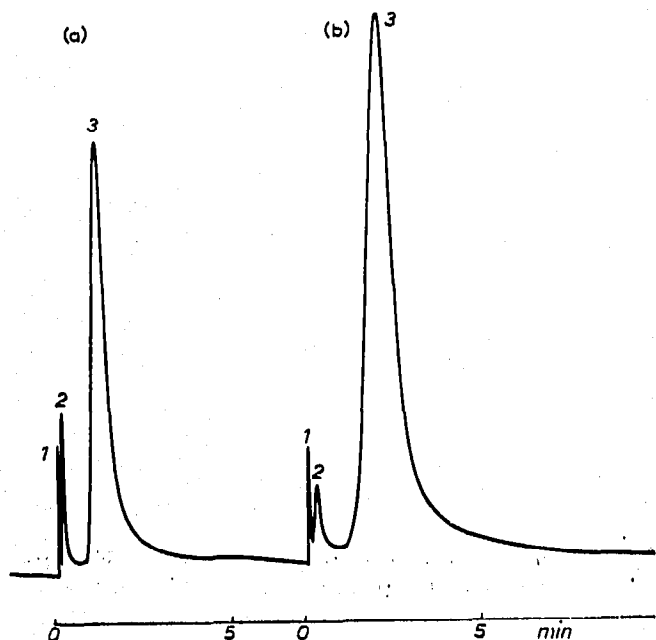


Fig. 3. Chromatogramm von C-Propionylmalonester (a) und C-*n*-Butyrylmalonester (b). Probenvolumen je 0.1 μ l; Ofentemperatur 115°; Glassäule 30 cm; Durchmesser 0.3 cm; übrige Bedingungen wie bei Fig. 1. Bezeichnung der Peaks (a) und (b): 1 und 2 = Verunreinigungen; 3 = Substanz.

Apparatives

Da das zur Verfügung stehende Gerät nur über einen Metalleinspritzblock verfügt, war eine Lösung zu finden, die eine direkte Dosierung auf die Trennsäule ermöglicht. Dazu wird der Anfang einer Glassäule rechtwinklig abgebogen und zwischen den Asbestdichtungen von Ofenraum und Ofenhaube hindurchgeführt. Fixieren der Ofenhaube in entsprechender Höhe ermöglicht den Einbau einer vom Ofenraum unabhängigen Heizung für die Einspritzzone.

Im Anschluss an die Glassäule müssen die aufgetrennten Komponenten die übliche Detektorzuleitung aus Stahl durchlaufen, wo sie sich infolge der hohen Temperatur zersetzen. Es ist anzunehmen, dass die in den Chromatogrammen auftretende Schwanzbildung auf solche Zersetzungsvorgänge zurückzuführen ist, die nach dem Durchlaufen der Trennsäule durch den Kontakt mit Metallteilen ausgelöst werden.

Die gas-chromatographischen Analysen sind mit einem Fraktometer F6/4 der Firma Perkin Elmer mit Flammenionisationsdetektor durchgeführt worden. Quantitative Messungen sind mit Hilfe eines elektronischen Integrators D 2 derselben Firma

erfolgt und die Chromatogramme über einen 2 mV Servogor Potentiometerschreiber der Firma Goerz Elektro aufgezeichnet worden.

*Institut für Organische und
Pharmazeutische Chemie der Universität Graz,
Universitätsplatz 1, A-8010 Graz (Österreich)*

HEINRICH BINDER
KARL GROKE

¹ P. JOWETT UND B. J. HORROCKS, *Nature*, 192 (1961) 966.

² E. C. HORNING, E. A. MOSCATELLI UND C. C. SWEeley, *Chem. Ind. (London)*, (1959) 751.

Eingegangen den 12. Juni 1968

J. Chromatog., 37 (1968) 108-111

CHROM. 3675

A general screening method for urine constituents utilising gas-liquid chromatography

Few of the many constituents of urine are amenable to GLC without prior conversion to suitably volatile derivatives. For this purpose conversion to trimethylsilyl derivatives is often very suitable. Various silylation procedures have proved more or less successful according to the types of compound examined but a recent important advance has been achieved through the introduction of bis(trimethylsilyl)acetamide (BSA)^{1,2}. This reagent rapidly and quantitatively silylates alcohols, enols, phenols, carboxylic acids, amines, amides, ureas, heterocyclic compounds such as purines and pyrimidines and has been shown to yield derivatives suitable for GLC with such complicated molecules as steroid glucuronides³ and sugar phosphates⁴. It may thus be considered as a general reagent for GLC purposes.

Similarly, although a bewildering variety of liquid phases are still in use, interest seems gradually to be focussing on a few siloxane polymers as being most generally useful. These give excellent results with most trimethylsilyl derivatives and are not easily overloaded; relatively enormous quantities of urea, for instance, interfere only to the extent of obscuring immediately adjacent compounds on chromatograms.

It seemed to us that it should now be technically possible to develop a GLC method capable of screening urines for many types of compound in one operation. Such a method would have obvious practical limitations owing to overlaps and to wide quantitative differences between various compounds excreted, but should suffice to detect moderate pathological increases in relatively major urine constituents and larger increases in minor ones. Within these limitations such a general technique would be of obvious value in many pathological conditions and would doubtless further extend the range of diseases in which chemical analysis is of diagnostic value.

Experimental

Gas chromatography. The instrument used was a Pye 104 series dual-column model 64 with 1.5 m × 4 mm I.D. coiled glass columns. A hydrogen flame-ionisation