

## Note

### Zur Gaschromatographie der Trifluoracetyl-Aminosäure-Trimethylsilylester

#### III. Eine einfache Methode zur Darstellung der N-Trifluoracetyl-Aminosäure-Trimethylsilylester

G. MICHAEL

*Sektion Chemie der Humboldt-Universität zu Berlin, Hessische Strasse 1–2, 104 Berlin (D.D.R.)*

(Eingegangen am 22. Januar 1980; geänderte Fassung eingegangen am 1. April 1980)

Zwei Verfahren zur Darstellung der genannten Derivate sind in der Literatur beschrieben<sup>1,2</sup>. Da beide Verfahren Stufenpräparationen sind und hinsichtlich ihrer allgemeinen Anwendbarkeit auf alle Aminosäuren für die gaschromatographische (GC) Untersuchung von Aminosäuregemischen spezifische Schwierigkeiten aufweisen, fanden wir in der Reaktion der Aminosäure-Hydrotrifluoracetate mit Hexamethyldisilazan (HMDS) ein nach bisherigen Testungen allgemein gut geeignetes Darstellungsverfahren, das bei präparativen Ansätzen Ausbeuten bis zu 95% der Theorie ergab. Auch die Derivatisierung von Tryptophan, Tyrosin, Lysin und Ornithin bereitete keine Schwierigkeiten. Lysin und Ornithin ergaben dabei stets in glatter Reaktion die  $\alpha,\omega$ -Bis-Trifluoracetyl (TFA)-Aminosäure-Trimethylsilyl(TMS)-Ester. Beim Arginin und Histidin wurde keine Reaktion der Hydrotrifluoracetate mit HMDS beobachtet. Die Aufarbeitung dieser Reaktionsgemische führte stets wieder zu den entsprechenden Aminosäure-Hydrotrifluoracetaten (Arg·2CF<sub>3</sub>COOH and His·CF<sub>3</sub>COOH). Vom Cystein und Cystin konnten bisher keine definierten Reaktionsprodukte isoliert werden.

#### EXPERIMENTELLES

##### *Allgemeine Präparationsvorschrift*

0.01 Mol Aminosäure werden in 0.1 Mol (8 ml) CF<sub>3</sub>COOH gelöst und die viskose Lösung mit 10 ml abs. Dioxan verdünnt. Unter Rühren wird diese Lösung in 0.06 Mol (13 ml) eisgekühltes HMDS eingetropft und anschliessend unter Feuchtigkeitsausschluss am Rückfluss solange gekocht, bis die Reaktionslösung klar ist. Dabei sublimiert das entstehende NH<sub>4</sub>OCCF<sub>3</sub> in den Rückflusskühler. Die resultierende Lösung kann entweder direkt zur GC Untersuchung genutzt werden oder zur N-TFA-Aminosäure aufgearbeitet werden. Dazu wird das überschüssige HMDS gemeinsam mit dem Dioxan abdestilliert und der ölige Rückstand mit Alkohol versetzt. Eventuell ausfallende freie Aminosäure wird abgesaugt. Von der klaren alkoholischen Lösung wird der Alkohol abdestilliert und der Rückstand in abs. Äther aufgenommen. Ungelöst bleiben dabei nicht umgesetztes Aminosäure-Hydrotrifluoracetat, das abgesaugt wird. Aus der klaren ätherischen Lösung wird durch Abdestillieren oder Ver-

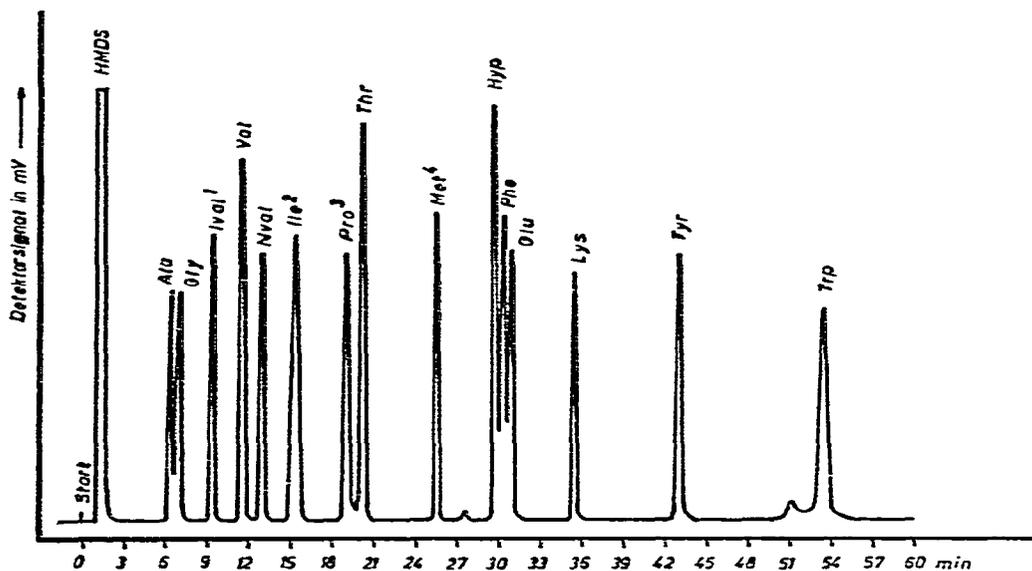


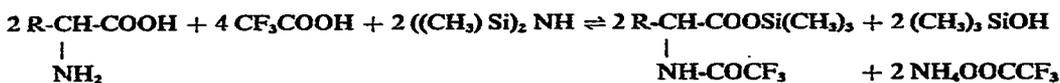
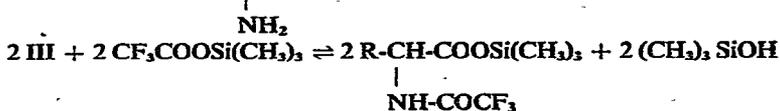
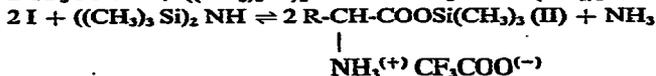
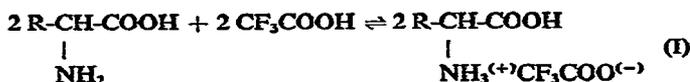
Fig. 1. GC Trennung der N-TFA-Aminosäure-TMS-Ester. Säule: 2 m × 3 mm I.D. V2A-Stahl, 10% OV-101 auf 80–100 mesh Chromosorb W AW DMCS; Temperatur: 8 min isotherm bei 100°C, dann Temperaturprogrammierung mit 3°C/min bis 220°C, anschliessend 10 min isotherm 220°C; Trägergasvolumen 3 l Stickstoff/h, Flammenionisationsdetektor, Messbereich  $1.9 \cdot 10^{-9}$  A. 1 = Isovalin überlappt mit Sarkosin; 2 = Isoleucin überlappt mit Leucin; 3 = Prolin überlappt mit Serin; 4 = Methionin überlappt mit Asparaginsäure.

dunsten des Äthers die N-TFA-Aminosäure in guter Reinheit isoliert, die, falls erforderlich, durch erneutes Lösen in Äther und Abtrennen eventueller Feststoffreste erhöht werden kann.

## ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Trotz der genannten vier Ausnahmen wurden zwanzig Aminosäuren nach dem geschilderten Verfahren zu den N-TFA-Aminosäure-TMS-Estern umgesetzt und für die GC Untersuchungen zugänglich gemacht (Fig. 1). Dabei wurde keine Optimierung der GC Bedingungen hinsichtlich einer vollständigen Auftrennung aller im Reaktionsgemisch enthaltender Aminosäurederivate durchgeführt, da es auf die prinzipielle Möglichkeit der GC Erfassung der vorliegenden Aminosäurederivate ankam.

Der eindeutige Vorteil des neuen Verfahrens gegenüber allen anderen Derivatierungsverfahren zur Darstellung verdampfbarer N-TFA-Aminosäure-TMS-Ester ist die Einstufenpräparation, die offensichtlich bis auf wenige Ausnahmen glatt und quantitativ verläuft. Der Reaktionsablauf wird wie folgt interpretiert.



Eine weiteres in der Literatur bereits beschriebenes Einstufenverfahren zur Darstellung verdampfbarer Aminosäurederivate besteht in der Umsetzung freier Aminosäuren oder ihrer Hydrochloride mit verschiedenen Silylierungsmitteln zu den volsilylierten Aminosäuren, die ebenfalls zur GC Untersuchung der Aminosäuren genutzt wurden<sup>3-6</sup>.

Die beschriebene Darstellung der N-TFA-Aminosäure-TMS-Ester kann auch zur präparativen Isolierung der N-TFA-Aminosäuren in einer sehr einfachen Weise genutzt werden, denn die Alkoholyse führt unter Abspaltung des TMS-Restes zu den alkohollöslichen N-TFA-Aminosäuren. Auf diesem Wege sind in guten Ausbeuten die TFA-Derivate von Tryptophan, Tyrosin, Lysin und Ornithin zugänglich. Ihre direkte Trifluoracetylierung führt nach Weygand und Geiger<sup>7</sup> nur unter besonderen Bedingungen zu befriedigenden Ausbeuten. Aus den trifluoracetylierten Hydroxyaminosäure-TMS-Estern erhält man bei der Alkoholyse stets die N-TFA-OH-Aminosäuren<sup>8</sup>.

#### LITERATUR

- 1 M. Schwarz und G. Michael, *J. Chromatogr.*, 118 (1976) 101-103.
- 2 H. R. Kricheldorf und M. Fehrlé, *Synthesis*, 6 (1974) 420.
- 3 L. Birkofer und A. Ritter, *Chem. Ber.*, 93 (1960) 424.
- 4 K. Rühlmann und G. Michael, *Z. Naturforsch. B*, 15 (1960) 811.
- 5 K. Rühlmann und G. Michael, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 47 (1965) 1467.
- 6 C. W. Gehrke und K. Leimer, *J. Chromatogr.*, 57 (1971) 219.
- 7 F. Weygand und R. Geiger, *Chem. Ber.*, 89 (1956) 647.
- 8 G. Michael, *J. Chromatogr.*, 188 (1980) 251.