

Note

Zur Gaschromatographie der Trifluoracetylaminosäuretrimethylsilylester

M. SCHWARZ und G. MICHAEL

Sektion Chemie der Humboldt-Universität zu Berlin, Hessische Str. 1/2, 104 Berlin (D.D.R.)

(Eingegangen am 11. September 1975)

Trifluoracetylierte Aminosäurealkylester wurden bereits häufig zur gaschromatographischen Aminosäuretrennung genutzt¹⁻⁸. Eine sehr einfache und quantitativ verlaufende Einschrittreaktion zur Darstellung verdampfbarer Aminosäurederivate fanden Rühlmann und Mitarbeiter in der Silylierung der Aminosäuren^{9,10}. Diese Derivate waren jedoch wegen der hohen Hydrolyseempfindlichkeit der Si-N Bindung in ihrer allgemeinen praktischen Handhabung den beständigeren Trifluoracetyl (TFA)-aminosäuretrimethylsilyl (TMS)-estern unterlegen. Die vorliegende Arbeit berichtet daher über die Darstellung und Strukturaufklärung dieser Derivate.

DARSTELLUNG DER AMINOSÄUREDERIVATE

Darstellung der N-Trifluoracetylaminosäuren

0.01 Mol der Aminosäure wurde in 4 ml absolutem Methylenchlorid suspendiert. Bei -10° wurden unter Rühren 3 ml (0.021 Mol) Trifluoressigsäureanhydrid zugetropft. Die Reaktionslösung wurde dann 2 Std. bei Zimmertemperatur nachgeführt. Von verbleibenden Rückständen wurde abgesaugt und die klare Reaktionslösung vom Lösungsmittel, überschüssigen Anhydrid und der als Nebenprodukt entstandenen Trifluoressigsäure im Ölumpenvakuum unter Stickstoff befreit. Die so erhaltenen N-TFA-Aminosäuren waren gelbe Öle bzw. gelbe bis weisse Kristalle, die durch Vakuumsublimation gereinigt wurden.

Darstellung der Trimethylsilylester

Die N-TFA-Aminosäuren wurden in 2 ml absolutem Pyridin gelöst, mit 2 ml Hexamethyldisilazan versetzt und am Rückfluss erhitzt. Nach 15 Min war die Silylierungsreaktion abgeschlossen. Die Reaktionslösung wurde entweder sofort zur gaschromatographischen Prüfung der N-TFA-Aminosäure-TMS-ester eingesetzt oder diese daraus durch Vakuumdestillation unter Stickstoff in Substanz isoliert.

IDENTIFIZIERUNG DER AMINOSÄUREDERIVATE

Die Trifluoracetylierung mit Trifluoressigsäureanhydrid in Methylenchlorid lieferte von allen Aminosäuren mit Ausnahme von Lysin und Tryptophan ölige bis kristalline Produkte. Bis auf das Cysteinderivat konnten alle ölig anfallenden Derivate durch Vakuumsublimation in die kristallinen N-TFA-Aminosäuren überführt werden, die einen scharfen Schmelzpunkt zeigten (Tabelle I).

TABELLE I

SUBLIMATIONSBEDINGUNGEN UND SCHMELZPUNKTE DER N-TFA-AMINOSÄUREN

TFA-Aminosäure	Sublimationsbedingungen (°C/Torr)	Schmelzpunkt (°C)
N-TFA-Alanin	60/0.5	83
N-TFA-Glycin	60/0.5	97
N-TFA-Leucin	100/0.2	56
N-TFA-Asparaginsäure	120/0.5	143–145
N-TFA-Serin	70/0.4	93–95
N-TFA-Threonin	90/0.3	96
N-TFA-Hydroxyprolin	75/0.5	134
N-TFA-Tyrosin	110/0.1	79
N,S-Bis-TFA-Cystein	70/0.1	—

Die anschliessende Silylierung mit Hexamethyldisilazan führte zu den N-TFA-Aminosäure-TMS-estern, die im Gaschromatogramm stets nur eine scharfe Bande zeigten. Daraus wird geschlossen, dass sowohl die Trifluoracetylierung als auch die anschliessende Silylierung zu einheitlichen Reaktionsprodukten führten.

Die Strukturaufklärung der N-TFA-Aminosäure-TMS-ester erfolgte mit Hilfe der IR- und H¹-NMR-Spektroskopie. Danach waren alle Aminosäuren ausschliesslich an der Aminofunktion trifluoracetyliert, lediglich Cystein zusätzlich noch an der Mercaptogruppe. Die Silylierung mit Hexamethyldisilazan führte zur Silylierung aller Carboxyl- und Hydroxylgruppen. In Tabelle II sind die untersuchten Aminosäurederivate aufgeführt.

TABELLE II

SIEDEPUNKTE, BRECHUNGSSINDICES, DICHTEN UND AUSBEUTEN DER N-TFA-AMINOSÄURE-TMS-ESTER

Aminosäurederivat	Siedepunkt (°C/Torr)	n _D ²⁰	d ²⁰ (g/cm ³)	Ausbeute (%)
N-TFA-Ala-TMS-ester	96–97/12	1.4000	1.158	100
N-TFA-Gly-TMS-ester	110/11	1.3992	1.197	100
N-TFA-Val-TMS-ester	107/12	1.4086	1.119	85
N-TFA-Leu-TMS-ester	118–120/14	1.4102	1.094	50
N-TFA-Ile-TMS-ester	119–120/14	1.4131	1.104	50
N-TFA-Phe-TMS-ester	138/0.8	1.4606	1.168	70
N-TFA-Pro-TMS-ester	113–114/1	1.4227	1.177	95
N-TFA-Asp-TMS-diester	128–129/2	1.4162	1.139	65
N-TFA-Glu-TMS-diester	157–160/5	1.4359	1.109	50
N-TFA,O-TMS-Ser-TMS-ester	109/1	1.4068	1.090	60
N-TFA,O-TMS-Thr-TMS-ester	110/1	1.4101	1.088	65
N-TFA,O-TMS-Hyp-TMS-ester	123/1	—	—	—
N-TFA,O-TMS-Tyr-TMS-ester	146/0.1	1.4631	1.138	50
N-TFA-Met-TMS-ester	133–137/3	1.4440	1.199	70
N,S-Bis-TFA-Cys-TMS-ester	94/2	1.4420	1.267	55

DANK

Für die Anfertigung der H¹-NMR-Spektren danken wir Herrn Dr. Gründemann vom Zentralinstitut für Organische Chemie der Akademie der Wissenschaften der DDR in Berlin und für die IR-Spektren Herrn DC. M. Siegmund von der Sektion Chemie der Humboldt-Universität Berlin.

LITERATUR

- 1 E. Bayer, F. Born und R. K. Reuther, *Angew. Chem.*, 69 (1957) 640.
- 2 H. A. Saroff und A. Karmen, *Anal. Biochem.*, 1 (1960) 344.
- 3 P. A. Cruickshank und J. C. Sheehan, *Anal. Chem.*, 36 (1964) 1191.
- 4 A. Islam und D. Darbre, *J. Chromatogr.*, 43 (1969) 11.
- 5 N. Ikeda, *J. Biochem. (Tokyo)*, 54 (1963) 279.
- 6 W. M. Lamkins und C. W. Gehrke, *Anal. Chem.*, 37 (1965) 383.
- 7 C. Zomsely, G. Marco und E. Emery, *Anal. Chem.*, 34 (1962) 1414.
- 8 D. Roach und C. W. Gehrke, *J. Chromatogr.*, 44 (1969) 269.
- 9 K. Rühlmann und W. Giesecke, *Angew. Chem.*, 73 (1961) 113.
- 10 K. Rühlmann und G. Michael, *Z. Naturforsch. B*, 15 (1960) 811.