

誘導体化試薬反応例

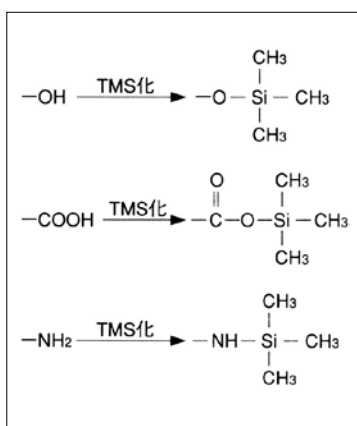
(1) 反応類別GC誘導体化試薬の特性、使用例

1. TMS化剤(トリメチルシリル化剤)

前処理剤として最も効果があり応用の広いもので、官能基としてヒドロキシル基(-OH)、カルボキシル基(-COOH)、アミノ基(-NH₂)を持つ極性物質に用いられる。

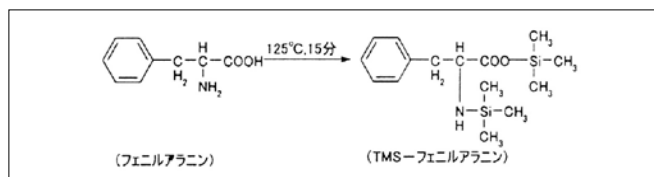
TMS誘導体は容易に加水分解されるため、試薬は無水である必要があり、操作も低温で行う事が大切である。

注) TMS化剤は呼吸器に対する刺激が強いため、ドラフト内で操作する必要があります。



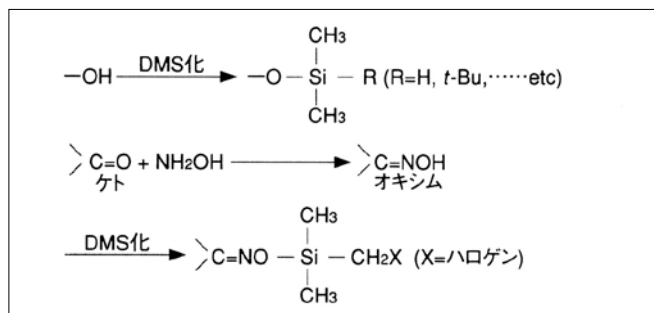
使用例

アミノ酸を*N, O*-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (BSTFA)でトリメチル化する



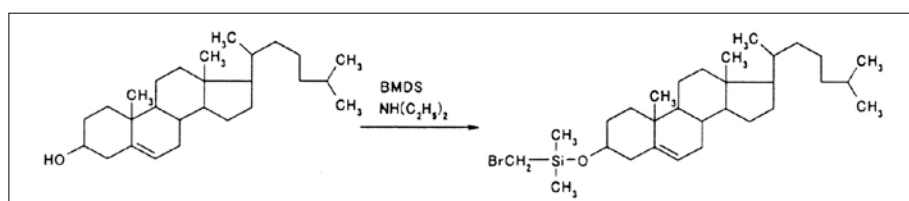
2. DMS化剤(ジメチルシリル化剤)

ヒドロキシル基(-OH)、ケト(=CO)類(オキシムに変換後)と容易に反応し、この誘導体は加水分解を受けない。主にステロイド及びプロスタグランジンのGC/MS分析に有用である。



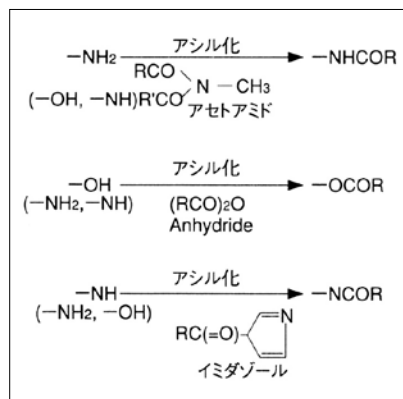
使用例

コレステロールをbromomethyldimethylchlorosilane (BMDS)でハロメチルシリル化する。



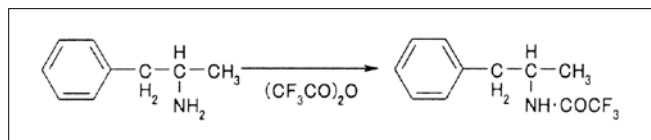
3. アシル化剤

アミノ基、ヒドロキシル基の水素をアシル基(RCO-)で置換することにより誘導体を得る。



使用例

アンフェタミン(覚醒剤)を無水トリフルオロ酢酸でアシル化する。



4. エステル化剤およびアルキル化剤

脂肪酸、コレステロール、トリグリセライドおよびアミノ酸類のエステル化は、従来より塩化水素・メタノール溶液、三フッ化ほう素・メタノール溶液およびジアゾメタンが使用されている。しかしこれらの試薬は反応性に富み、後処理は容易であるが、ジアゾメタンは毒性、爆発性が強く、またHCl-CH₃OHは刺激臭が強く、BF₃-CH₃OHは腐食性が強いなどの欠点がある。

最近、*N, N*-ジメチルホルムアミドジアルキルアセターが開発され、カルボン酸に試薬を加えて加熱するだけで、脂肪酸などは容易にエステル化できる。

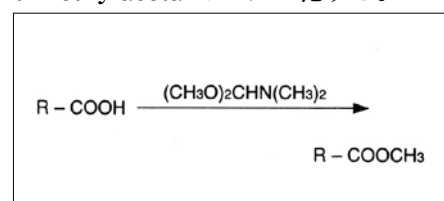
また、アルキル化剤として、1-アルキル-3-*p*トリルト

リアゼン化剤[CH₃-C₆H₄-N=NNHR (R: Alkyl基)]

は、カルボン酸、フェノール、イミドなどのアルキル化剤として非常に有用である。アミノ基、ヒドロキシル基、カルボキシル基の水素をアルキル基で置換することにより誘導体を得る。

応用例

脂肪酸をDimethylformamide dimethylacetalでメチル化する。



5. HMS (ハロメチルシリル) 化剤

ハロメチルシリル化剤は、エレクトロンキャプチャー検出器 (ECD) を使用し、ng~pgオーダーの微量試料分析の目的で、糖、ステロイドなどをハロゲンを含んだ誘導体にするのに使用される。

一般式：XCH₂Si(CH₃)₂Cl X=Cl, Br, I

注) HMS化剤は呼吸器に対する刺激が強いため、ドラフト内で操作する必要があります。

6. TFA (トリフルオロアセチル) 化剤

TFA化剤は、微量の脂質、糖、ステロイドおよびアミノ酸試料を分析する場合、これらの化合物のOH基、NH₂基のTFA化に使用される。分子量の大きい化合物の揮発性を高め、ECD検出器で超微量サンプルの検出ができる利点がある。

(2) 試薬別GC誘導体化試薬の特性、使用例

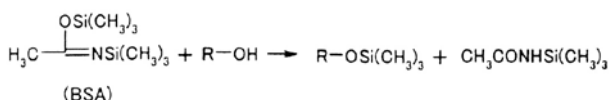
代表的な前処理用試薬略号表 (アルファベット順)

略号	品名	適用	反応類別
AIM	N-Acetylimidazole	カテコールアミン	3.アシル化剤
BSA	N, O-Bis(trimethylsilyl)acetamide	水酸基、カルボキシル基、アミノ酸、アミド	1.TMS化剤
BSTFA	N, O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide	水酸基、カルボキシル基、アミノ酸、アミド	1.TMS化剤
CMTMS	1, 3-Bis(chloromethyl)-1, 1, 3, 3-tetramethyldisilazane	ステロイド	2.DMS化剤
DMCS	Dimethylchlorosilane	ステロイド、担体処理	2.DMS化剤
HFBI	N-Heptafluorobutyrylimidazole	カテコールアミン	3.アシル化剤
HMDS	1, 1, 1, 3, 3, 3-Hexamethyldisilazane	アルコール、フェノール、有機酸、糖	1.TMS化剤
MBTFA	N-Methylbistrifluoroacetamide	1, 2級アミン、水酸基、チオール類、糖	6.TFA化剤
MSTFA	N-Methyl-N-trimethylsilyl Trifluoroacetamide	ステロイド、カテコールアミン	1.TMS化剤
TFAA	Trifluoroacetic Anhydride	アルコール類、アミン類	6.TFA化剤
TFAI	N-Trifluoroacetylimidazole	カテコールアミン	3.アシル化剤
TMCS	Chlorotrimethylsilane	アルコール、フェノール、有機酸、糖	1.TMS化剤
TMSA	N-Trimethylsilylacetamide	糖	1.TMS化剤
TMSDEA	N-(Trimethylsilyl)diethylamine	アミノ酸	1.TMS化剤
TMSI	N-Trimethylsilylimidazole	アルコール、フェノール、有機酸、ステロイド、ホルモン類、核酸	1.TMS化剤

1) N, O-Bis (trimethylsilyl) acetamide (BSA)

029-06993, 023-06991, 027-06994

反応例



糖アルコール混合物 (各1mg含有) に本品2mlを加え50~60℃で加温溶解し、室温に数分間放置後、その2μlをGCに注入する。

性質

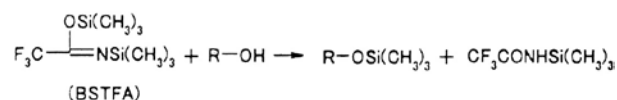
水酸基、カルボキシル基以外にアミノ酸、アミドにも反応性が高い。また糖のTMS化には適さないが、Chlorotrimethylsilane (コードNo.200-08002) を触媒に用いることにより反応させることが可能。

(MW : 203.4, bp : 71~73℃/35mmHg)

2) N, O-Bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide (BSTFA)

022-07181

反応例



ブドウ糖0.1gに本品1ml、ピリジン4mlを加え90℃30分放置し、さらにピリジンを加え全量25mlとし、その2μlをGCに注入する。

性質

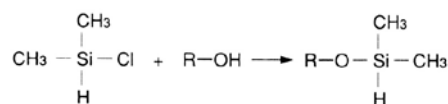
用途、特性などは、BSAとほぼ同様であるが、活性が高くまた揮発性・溶解性にもたいへん優れている。

(MW : 257.4, bp : 40℃/12mmHg)

3) Dimethylchlorosilane (DMCS)

301-60402

反応例



性質

水酸基、ケト類と容易に反応し、誘導体は加水分解を受けない。主にステロイド及びプロスタグランジンのGC/MS分析に有用である。

(MW : 129.0, bp : 70~71℃)

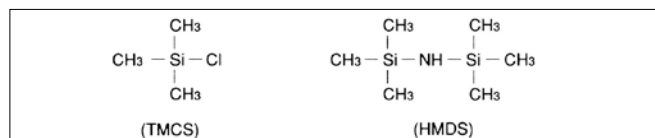
4) Chlorotrimethylsilane (TMCS)

200-08002

1,1,1,3,3,3-Hexamethyldisilazane (HMDS)

309-60241

構造



反応例

アリルイソプロピルアセチル尿素、エテンザミド、アセトアミノフェン、カフェインおよびアミノピリン各5mgの混合物にHMDS/TMCS/ピリジン混合溶液(2/1/10(v/v/v))5mlを加え、50~60℃、10分間加熱溶解後N₂ガスをふきつけて溶媒を揮散させる。残渣にアセトン5mlを加え溶解し、その3μlをGCに注入する。

性質

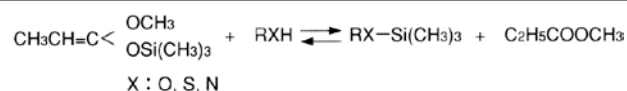
多くの場合は、TMCSとHMDSを共に用いて行う。アルコールを試料とする場合は、HMDSのみで反応する。反応に用いられる試料は、アルコール類、糖、アミノ酸、有機酸、フェノール酸など多様で非常に汎用性のある誘導体化試薬である。

(MW: 161.0(HMDS) 108.6(TMCS)、bp: 125℃ (HMDS) 57℃ (TMCS))

5) O-Methyl-O-trimethylsilylmethylketene Acetal

136-07591

反応例



乾燥した反応容器にβ-フェニルエチルアルコール1.22g(10mmol)とジクロロメタン5mlを入れる。アルゴンガス気流下、本品1.92g(12mmol)を5mlのジクロロメタンに溶解した溶液を室温でゆっくり滴下する。その後、攪拌をしながら50℃で50分間加熱する。反応終了後、反応液を減圧下濃縮するとほとんど純粋なフェニルエチルトリメチルシロキサンが得られる。さらに蒸留により精製すれば、bp94℃/12mmHgの生成物が1.84g(95%)得られる。

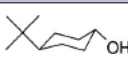
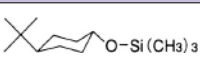

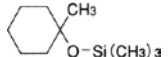
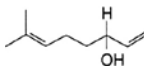
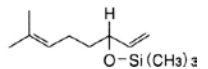

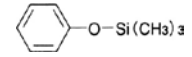
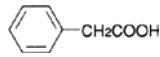
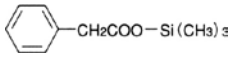
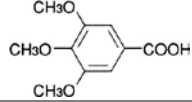
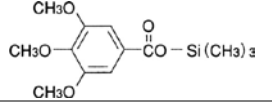
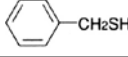
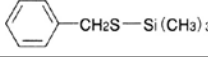
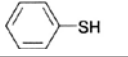
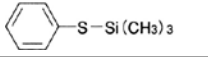
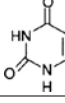
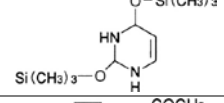
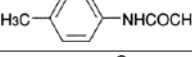
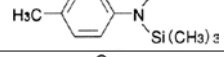

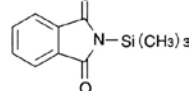
性質

本品は水酸基、カルボキシル基、エノール化し得るカルボニル基あるいはチオール基を有する化合物と緩和な条件で容易に反応し、これらの官能基をトリメチルシリル(TMS)化すると同時に本品の残基は比較的沸点の低いプロピオン酸メチル(bp79.7℃)になることから容易に留出でき、目的物の単離が簡単に行なえる等の特色を有する。(MW: 160.3)

参考文献

Y.Kita, J.Haruta, J.Segawa, Y.Tamura, *Tetrahedron Lett.*, 44, 4311 (1979).

■ その他のO-Methyl-O-trimethylsilylmethylketene Acetalの使用例

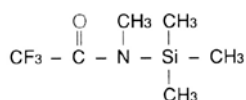
化合物(RXH)	シリル化生成体	反応条件			収率(%)
		溶媒	反応温度(℃)	反応時間(分)	
		CH ₃ CN	50	50	99
		CH ₂ Cl ₂	50	30	87 ^{*1}
		CH ₂ Cl ₂	50	40	83 ^{*1}
		CH ₂ Cl ₂	25	5	99
		CH ₂ Cl ₂	15	5	99
		CH ₃ CN	25	40	99
		CH ₂ Cl ₂	50	50	97
		CH ₂ Cl ₂	25	5	95
		CH ₃ CN	55	90	95 ^{*2}
		CH ₃ CN	50	10	95 ^{*2}
		CH ₃ CN	50	10	99 ^{*2}

*1 反応触媒としてp-トルエンスルホン酸を使用。 *2 湿気に不安定。

6) *N*-Methyl-*N*-trimethylsilyl Trifluoroacetamide (MSTFA)

538-14741, 534-14743

構造



反応例

試料5~10mgに溶媒1ml(アミノ酸の場合アセトニトリル)とMSTFA0.5mlを加え30秒間振とうする。さらに70℃で15分間反応後GC分析を行う。

性質

MSTFAは、アミド類の誘導体化に効果的で、TMSに比べ揮発性が高い。またBSTFAやBSAに比べてもより揮発性が高くなっている。*N*-Methyltrifluoroacetamideが副生成物であり、GC分析時においてMSTFAより保持が小さいためそれぞれのピークが重なることがない。

またステロイドのシリル化はBSTFAやBSAより高い反応性を示し、さらにアミンの塩酸塩は直接シリル化できる。

(MW : 199.1, bp : 70℃/75mmHg)

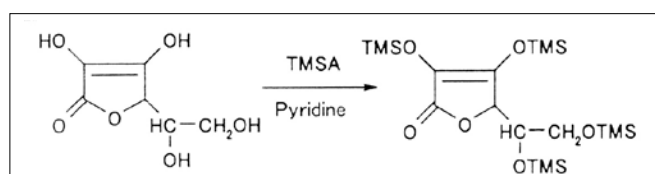
参考文献

- 1) M.Donike, *J.Chromatogr.*, 42, 103(1969).
- 2) H.Gleispach, *J.Chromatogr.*, 91, 407(1974).
- 3) S.L.Ali, *Chromatographia*, 8(1) (1975).
- 4) B.Spiegelhalder, *et al.*, *Biochemistry*, 7, 749(1976).
- 5) S.Kourou-Daley, *et al.*, *Biomed. Mass Spec.*, 8(5) (1981).
- 6) T.R.Kemp, *et al.*, *J. Chromatogr.*, 241, 323(1982).
- 7) F.S.Abbott, *et al.*, *J. Chromatogr.*, 375, 285(1986).
- 8) C.Tsacanas, *et al.*, *Anal.Biochem.*, 157, 300(1986).
- 9) K.J.Hoffmann, *et al.*, *Biomed. and Environ. Mass Spec.*, 15, 637(1988).

7) *N*-Trimethylsilylacetamide (TMSA)

204-07101

反応例



試料50mgとオクタデカン50mg(内部標準物質)をピリジン10mlに溶解し、TMSA 1.5gを加え窒素雰囲気中で4時間以上室温にて反応させる。

性質

カルボン酸などを温和な条件で反応させることができる。

(MW : 131.3, bp : 103~105℃/30mmHg)

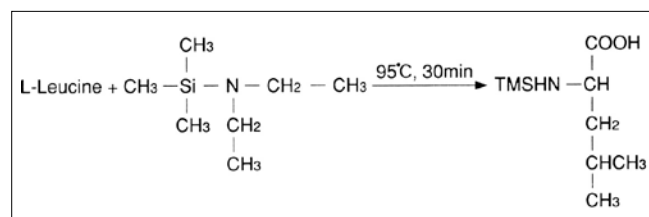
参考文献

- 1) M.Vecchi, K.Kaiser, *J. Chromatogr.*, 26, 22(1967).

8) *N*-(Trimethylsilyl) diethylamine (TMSDEA)

208-07121

反応例



L-ロイシン0.1gを本品1.5mlに溶かした溶液を95℃、30分間放置後、ピリジンを加え全量25mlとし、その2μlをGCに注入する。

性質

アミノ酸、脂肪酸などに有用であり、アミノ酸の場合触媒としてTMCSやトリクロロ酢酸を加えることによりさらに効率よく反応できる。

(MW : 145.3, bp : 126~127℃)

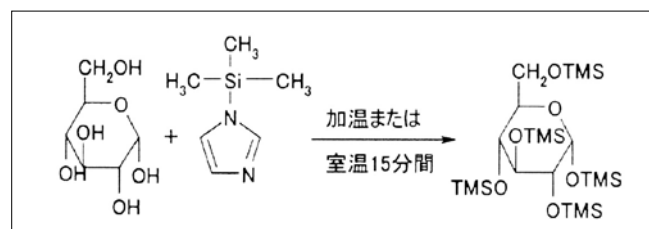
参考文献

- 1) K.Ruhmann, *Chem. Ber.*, 94, 1876(1961).
- 2) P.S.Mason, E.D.Smith, *J. Gas Chromatogr.*, 4, 398(1966).
- 3) E.D.Smith, H.Sheppard, Jr., *Nature*, 208, 878(1965).
- 4) K.Tsuji, J.H.Robertson, *Anal. Chem.*, 41, 1332(1969).
- 5) E.M.Chambaz, *et al.*, *Anal. Biochem.*, 30, 7(1969).

9) *N*-Trimethylsilylimidazole (TMSI)

201-07091, 209-07092

反応例



糖0.1gにTMSI 2mlとピリジン20mlを加え加温溶解し、さらにピリジンを加え全体として25mlにする。その2μlをGCにて分析する。

性質

水酸基、カルボキシル基に対して緩和な条件で迅速に反応するが、アミノ基には反応性がない。

誘導体化の対象化合物としては、アルコール、フェノール、有機酸、ステロイド、ホルモン類、核酸などに応用できる。

(MW : 140.3, bp : 99℃/14mmHg)

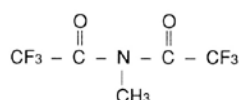
参考文献

- 1) G.D.Brittain, L.Schewe, *Recent Advances in Gas Chromatography*, I.L.Domskey, J. A. Perry, Eds. Marcel Dekker, Inc., New York, NY (1971).
- 2) N.Sakauchi, E.C.Horning, *Anal. Lett.*, 4(1), 41(1971).
- 3) M.G.Horning, *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, 148, 597(1967).
- 4) M.G.Horning, *et al.*, *Anal. Lett.*, 1, 311(1968).
- 5) O.Mamer, B.Gibbs, *Clin.Chem.*, 19(9), 1006(1973).
- 6) Wu, H.-L., *et al.*, *J. Chromatogr.*, 137, 127(1977).
- 7) J.W.Mayhew, *et al.*, *J. Chromatogr.*, 151, 13(1978).

10) *N*-Methylbistrifluoroacetamide (MBTFA)

135-07441

構造



反応例

カテコールアミン

：エピネフリン10mgおよびドーパミン10mgに本品1mlを加え溶解し、3時間放置した後、さらに60~70℃で約10分間加温し、室温にて2~3時間放置後、*n*-ヘキサンを加え全体として10mlとして、その2μlをGCに注入する。

糖類

：糖5~10mgにMBTFA 0.5ml、およびピリジン0.5mlを加え、65℃で約1時間振り混ぜながら加熱する。試料溶解後GC分析する。

性質

MBTFAは、非酸性条件下で1,2級アミン、水酸基、チオール類および糖をTFA化できる。

誘導体化による生成物は、非常に揮発性に富む。

(MW : 223.1, pb : 123~124℃)

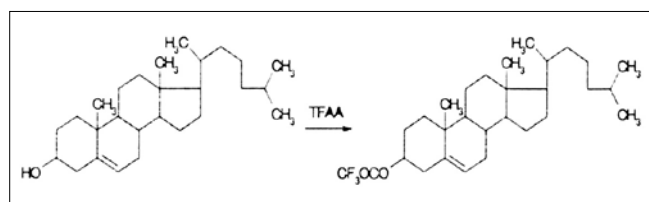
参考文献

- 1) M.Donike, *J. Chromatogr.*, 78 273(1973).
- 2) J.Sullivan, *et al.*, *J. Chrom. Sci.* 15, 196(1977).
- 3) C.J.Weitz, *et al.*, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 83, 9784(1986).

11) Trifluoroacetic Anhydride (TFAA)

201-07111

反応例



コレステロール50mgにピリジン2mlを加え溶解し、TFAA 0.1ml、クロロホルムを加え25mlとしてGCで分析する。

性質

アルコール類、アミン類などをトリフルオロアセチル化しGC/MS分析に用いられる。また、FIDやECDに対しても優れた感度を得られる。反応時は、ピリジン、トリメチルアミンなど塩基性化合物の添加により、効率よく誘導体化を促進することができる。

12) *N,N*-Dimethylformamide Dimethyl Acetal

040-17351, 046-17353

N,N-Dimethylformamide Di-*n*-butyl Acetal

044-17371

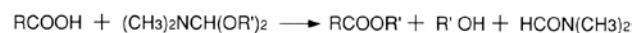
N,N-Dimethylformamide Di-*t*-butyl Acetal

049-18161

N,N-Dimethylformamide Diethyl Acetal

047-17361

反応例



パルミチン酸50mgにDMF-ジメチルアセタノール0.3mlを加え加温溶解し、*N,N*-ジメチルホルムアミドを加えて10mlとして、その5μlをGC注入するとパルミチン酸メチルエステルのピークが得られる。

また、DMF-ジエチルアセタール、DMF-ジ-*n*-ブチルアセタールを使用して同様の操作をすると、それぞれパルミチン酸エチルエステル、*n*-ブチルエステルのピークが得られる。