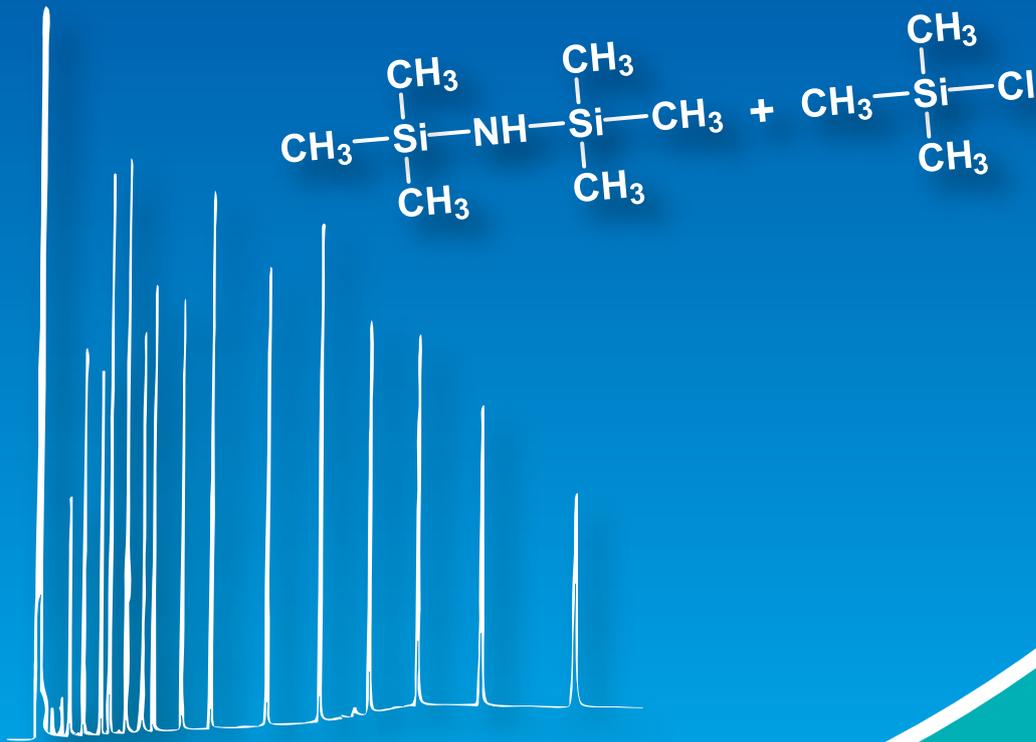


GC 前処理試薬

GC Derivatization Reagents



トリメチルシリル化剤

アシル化剤

シリル化剤

エステル化剤

その他の前処理試薬

目次

■トリメチルシリル化剤／Trimethylsilylation Reagents

| | |
|-------------------------------|---|
| トリメチルシリル化剤 (A5000 シリーズ) | 5 |
|-------------------------------|---|

■アシル化剤／Acylation Reagents

| | |
|------------|----|
| 酸無水物 | 10 |
|------------|----|

| | |
|--------------------------------|---------|
| Trifluoroacetic Anhydride | [T0433] |
| Pentafluoropropionic Anhydride | [P0566] |
| Heptafluorobutyric Anhydride | [H0337] |

| | |
|------------------|----|
| アシル化イミダゾール | 10 |
|------------------|----|

| | |
|------------------------------------|---------|
| <i>N</i> -Acetylimidazole | [A0694] |
| <i>N</i> -Trifluoroacetylimidazole | [T0670] |
| 1-(Heptafluorobutyryl)imidazole | [H0467] |

| | |
|------------------|----|
| フッ素化アセトアミド | 10 |
|------------------|----|

| | |
|---|---------|
| Bistrifluoroacetamide | [B0986] |
| <i>N</i> -Methylbis(trifluoroacetamide) | [M0671] |

■シリル化剤／Silylation Reagents

トリメチルシリル化剤の性質、反応式、取扱い注意などについてはp.5のトリメチルシリル化剤をご参照ください。

| | |
|------------------|----|
| トリメチルシリル化剤 | 11 |
|------------------|----|

| | |
|--|---------|
| 1,1,1,3,3,3-Hexamethyldisilazane (=HMDS) | [H0089] |
| Chlorotrimethylsilane (=TMCS) | [C0306] |
| TMS-HT | [T0274] |
| TMS-HT Kit | [T0690] |

| | |
|-------|----|
| | 13 |
|-------|----|

| | |
|--|---------|
| <i>N,O</i> -Bis(trimethylsilyl)acetamide (=BSA) | [B0511] |
| <i>N,O</i> -Bis(trimethylsilyl)acetamide Kit (=BSA Kit) | [B0911] |
| <i>N,O</i> -Bis(trimethylsilyl)acetamide (25% in Acetonitrile) (=TMS-BA) | [B0510] |
| <i>N,O</i> -Bis(trimethylsilyl)acetamide Kit (25% in Acetonitrile) (=TMS-BA Kit) | [T0691] |
| <i>N,O</i> -Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (=BSTFA) | [B0830] |
| <i>N,O</i> -Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide Kit (=BSTFA Kit) | [B0912] |

| | |
|-------|----|
| | 14 |
|-------|----|

| | |
|---|---------|
| <i>N</i> -Trimethylsilylacetamide (=N-TMS-acetamide) | [T0590] |
| <i>N</i> -Methyl- <i>N</i> -trimethylsilylacetamide (=N-Methyl-N-TMS-acetamide) | [M0536] |
| <i>N</i> -Methyl- <i>N</i> -trimethylsilyltrifluoroacetamide (=MSTFA) | [M0672] |

| | |
|-------|----|
| | 15 |
|-------|----|

| | |
|--|---------|
| <i>N</i> -(Trimethylsilyl)diethylamine (=TMS-DEA) | [T0492] |
| <i>N</i> -(Trimethylsilyl)dimethylamine (=TMS-DMA) | [T0591] |

| | |
|-------|----|
| | 16 |
|-------|----|

| | |
|---|---------|
| TMS-Imidazole (=SIM, <i>N</i> -Trimethylsilylimidazole) | [T0585] |
| TMS-Imidazole Kit (=SIM Kit, <i>N</i> -Trimethylsilylimidazole Kit) | [T0693] |

| | |
|-------|----|
| | 17 |
|-------|----|

| | |
|------------|---------|
| TMS-PZ | [T0623] |
| TMS-PZ Kit | [T0692] |

| | |
|---|---------|
| ジメチルシリル化剤 | 17 |
| 1,1,3,3-Tetramethyldisilazane (=TMDS) | [T0833] |
| Chlorodimethylsilane (=DMCS) | [C0778] |
| ジメチルアルキルシリル化剤 | 18 |
| 1-(Dimethylethylsilyl)imidazole | [D1516] |
| 1-(Dimethylisopropylsilyl)imidazole | [D1596] |
| 1-(<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl)imidazole | [B1043] |
| <i>tert</i> -ブチルジメチルシリル化剤 | 20 |
| <i>N</i> -(<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl)- <i>N</i> -methyltrifluoroacetamide (=MTBSTFA) | [B1150] |
| ハロメチルジメチルシリル化剤 | 21 |
| 1,3-Bis(chloromethyl)tetramethyldisilazane | [B0990] |
| Chloromethyldimethylchlorosilane (=CMDMCS) | [C0605] |
| Bromomethyldimethylchlorosilane (=BMDMCS) | [B0847] |
| ペンタフルオロフェニルジメチルシリル化剤 | 21 |
| Pentafluorophenyldimethylchlorosilane (=Flopheomesyl Chloride) | [P0854] |

■エステル化剤 / Esterification Reagents

| | |
|--|---------|
| 酸触媒-無水アルコール溶液 | 22 |
| Boron Trichloride - Methanol Reagent (5-10%) | [X0033] |
| Boron Trichloride - 2-Chloroethanol Reagent (5-10%) | [X0032] |
| Boron Trifluoride - Butanol Reagent (10-20%) | [X0034] |
| Boron Trifluoride - Isopropyl Alcohol Reagent (10-20%) | [X0035] |
| Boron Trifluoride - Propanol Reagent (10-20%) | [X0037] |
| Boron Trifluoride - Methanol Reagent (10-20%) | [X0036] |
| Hydrogen Bromide - Ethanol Reagent (10-20%) | [H0959] |
| Hydrogen Bromide - Methanol Reagent (5-10%) | [X0043] |
| Hydrogen Chloride - Butanol Reagent (5-10%) | [X0039] |
| Hydrogen Chloride - Methanol Reagent (5-10%) | [X0041] |

| | |
|---|-----------|
| ジメチルホルムアミドジアルキルアセタール | 23 |
| <i>N,N</i> -Dimethylformamide Dimethyl Acetal | [D2071] |
| <i>N,N</i> -Dimethylformamide Dimethyl Acetal | [D1332] |
| <i>N,N</i> -Dimethylformamide Diethyl Acetal | [D1294] |
| <i>N,N</i> -Dimethylformamide Dipropyl Acetal | [D1301] |
| <i>N,N</i> -Dimethylformamide Dibutyl Acetal | [D1302] |
| <i>N,N</i> -Dimethylformamide Di- <i>tert</i> -butyl Acetal | [D1303] |
| <i>N,N</i> -Dimethylformamide Dineopentyl Acetal | [D1595] |
| 1-アルキル-3- <i>p</i> -トリルトリアゼン | 25 |
| 1-Methyl-3- <i>p</i> -tolyltriazene | [M0641] |
| 1-Ethyl-3- <i>p</i> -tolyltriazene | [E0292] |
| 1-Isopropyl-3- <i>p</i> -tolyltriazene | [I0280] |
| 1-Benzyl-3- <i>p</i> -tolyltriazene | [B0949] |
| オンカラムメチルエステル化剤 | 26 |
| Phenyltrimethylammonium Hydroxide (=PTAH) (8.5% in Methanol) | [T3610] |
| Tetramethylammonium Hydroxide (=TMAH) (10% in Methanol) | [T0676] |
| Trimethylsulfonium Hydroxide (0.2 mol/L in Methanol) | [T1576] |
| 3-(Trifluoromethyl)phenyltrimethylammonium Hydroxide (=m-TFPTAH) (5% in Methanol) | [T0961] |
| 環状ボロネートエステル化剤 | 29 |
| Butylboronic Acid | [B0529] |
| Phenylboronic Acid | [B0857] |
| Ferroceneboronic Acid | [F0280] |
| ペンタフルオロベンジルエステル化剤 | 30 |
| Pentafluorobenzyl Bromide | [P0809] |
| 安全なメチルエステル化剤(TMS-ジアゾメタン) | 31 |
| Trimethylsilyldiazomethane (=TMS-Diazomethane) (ca. 10% in Hexane, ca. 0.6mol/L) | [T1146] |
| ジアゾメタン調製用試薬 | 32 |
| <p>-Toluenesulfonyl-<i>N</i>-methyl-<i>N</i>-nitrosoamide</p> | [T0323] |
| ■その他の前処理試薬 / Other Pretreatment Reagents | |
| ケトステロイドオキシム調製試薬 | 33 |
| <i>O</i> -(2,3,4,5,6-Pentafluorobenzyl)hydroxylamine Hydrochloride | [P0822] |
| 無機陰イオンのGC前処理試薬 | 34 |
| Pentafluorobenzyl <i>p</i> -Toluenesulfonate (=PFB - Tosylate) | [T1204] |

トリメチルシリル化剤

Trimethylsilylation Reagents

トリメチルシリル化剤 (A5000 シリーズ)

ガスクロマトグラフィー (GC) は、生体試料、環境試料などの分析に広く用いられています。また、その対象は、より微量成分の分析へと広がりつつあります。これに伴って、GC 試料前処理用試薬もその目的にあったものが要求されてきています。

A5000 シリーズのトリメチルシリル化 (TMS 化) 剤は、このような微量成分分析用に品質管理された GC 試料前処理用 TMS 化剤です。ここに属する試薬は、いずれも分析の妨害となるような高沸点の不純物 (保持指標で 1500 以上の成分) が一成分当たり、50 ppm 以下になるように精製、管理されています。

| 品名 | 容量 | 容器 | 製品コード |
|--|------|------|-------|
| BSA [=N,O-Bis(trimethylsilyl)acetamide] | 5 mL | Vial | A5601 |
| TMS-BA (BSA 25% in Acetonitrile) | 5 mL | Vial | A5602 |
| BSTFA [=N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide] | 5 mL | Vial | A5603 |
| TMS-HT (=HMDS and TMCS in Anhydrous Pyridine) | 5 mL | Vial | A5604 |
| TMS-Imidazole (=SIM, N-Trimethylsilylimidazole) | 5 mL | Vial | A5605 |

1. 製品一覧

2. 一般的取扱い注意

湿気を避けて密栓し、防爆型冷蔵庫に保存してください。

皮膚、目、口、粘膜との接触を避けてください。

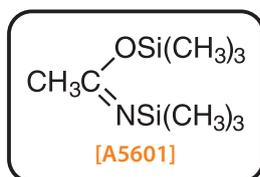
バイアルから試薬を取り出す場合は、乾燥した注射器またはマイクロシリンジをご使用ください。

バイアルのパッキンにはテフロン張りのゴムを使用しています。一度注射針を突き刺した後はテフロンに穴が開き、試薬がゴムと直接接触して汚染される恐れがあります。なるべく早い時期に使い切ってください。

3. 製品各論

3.1 BSA [=N,O-Bis(trimethylsilyl)acetamide]

5 mL [A5601]

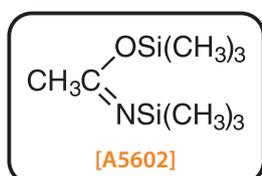


水酸基、カルボキシル基を含む化合物のほかアミノ酸、アミドなどの有機窒素化合物に対しても極めて効果的です。単独では糖の TMS 化には適しません。クロロトリメチルシランを触媒として用いることで使用できます。

アミノ酸、アミド、尿素、フェノール、カルボン酸、エノール、スルホン酸、ステロイド、尿酸、核酸、糖。

3.2 TMS-BA (25% BSA in Acetonitrile)

5 mL [A5602]

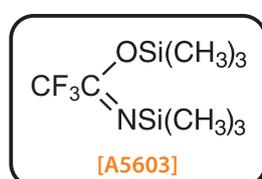


冬季または冷蔵保存により二層に分離することがあります。加温し、振りまぜ、均一溶液として使用します。

[A5602]

3.3 BSTFA [=N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide]

5 mL [A5603]

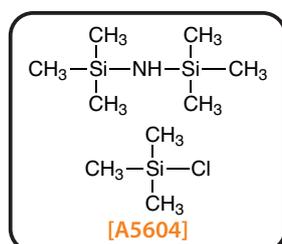


BSA に準じます。BSA よりも活性、揮発性、溶解性が強く、水素炎イオン化検出器 (FID) に対して有効です。BSA よりも優れている点は、副生成物の揮発性が大きいので、ガスクロマトグラム上で分析の障害となりにくいことです。特にアミノ酸の TMS 化（例えばアラニン、バリンなどは 125 °C で 15 分間加熱）に適しています。

[A5603]

3.4 TMS-HT (=HMDS and TMCS in Anhydrous Pyridine)

5 mL [A5604]



ヘキサメチルジシラザン (= HMDS) とクロロトリメチルシラン (= TMCS) を主成分とするピリジン溶液です。貯蔵中、塩化アンモニウムの結晶を析出することがありますが、上澄液を使用します。

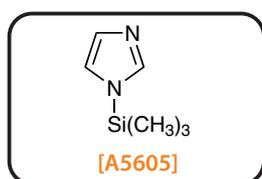
【適用】

水酸基に適します。アルコール、糖、ステロイド。

[A5604]

3.5 TMS-Imidazole (=SIM, N-Trimethylsilylimidazole)

5 mL [A5605]



【適用】

水酸基のみと反応します。アルコール、糖、ステロイド、尿酸。

[A5605]

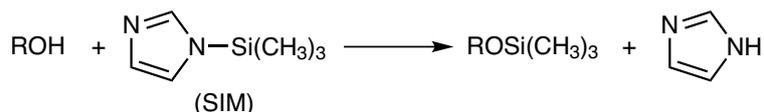
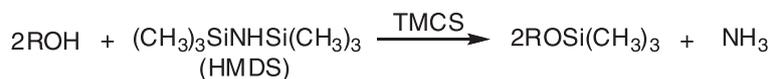
4. TMS化剤について

TMS化剤は活性のトリメチルシリル基 (TMS基) をもった化合物で、GC分析 (構造類縁物質の分離、臨床応用、例えば血清アミノ酸、ステロイド、尿酸などの分析)、ペプチド、ヌクレオシドなどの合成における活性基の保護および有機化合物や無機酸 (ほう酸、ひ酸、りん酸など) の分離精製など、応用範囲の広い試薬です。

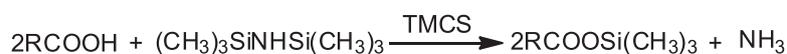
GCにおけるTMS化剤の主な用途は、難揮発性極性の水酸基、カルボキシル基、メルカプト基、アミノ基、イミノ基などを含む化合物、例えば糖、アルコール、フェノール、ステロイド、アミノ酸、ペプチド、核酸などをTMSエーテル、TMSエステル、TMSチオエーテル、N-TMS体とし、熱に安定な揮発性化合物に変換して、GC分析を可能にすることです。また、そのままでは不安定なために通常の前処理を行えない化合物 (例えばウロン酸) や直接TMS化しにくい化合物 (スルホン酸塩) も、あらかじめ適当な誘導体 (この例ではそれぞれ糖、アルコールおよびチオール) に変えておくことによってTMS化法を利用できます。

5. TMS化反応式

ヒドロキシル化合物



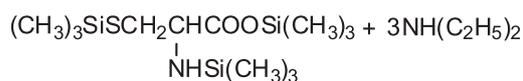
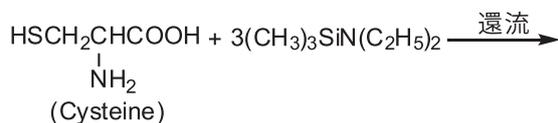
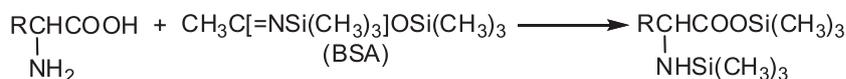
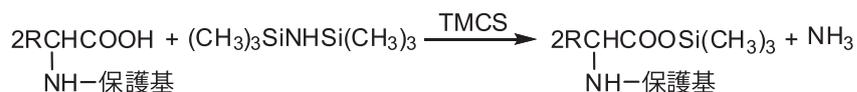
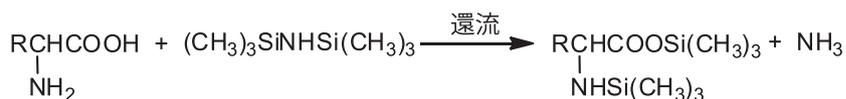
カルボキシル化合物



アミノ化合物



アミノ酸



6. 応用例

6.1 一般的操作法

[1] 糖、アルコール、ステロイドなど

試料 約1 mgおよびTMS-HT 1 mLまたはSIM 1 mLを乾燥バイアルにとり、密栓した後、振りまぜるか加熱により反応させます (TMS-HTを用いた場合、塩化アンモニウムの結晶が析出しますが上澄液をGC試料とします)。

[2] アルコール、アミノ酸、アミンなど

試料 約1 mgおよびTMS-BA 1 mLを乾燥バイアルにとり、密栓した後、振りまぜるか加熱により反応させます。

6.2 実用例

6.2.1 糖類

[1] 糖一般

10 mgの糖にTMS-HT 1 mLを加え、30秒間振りまぜた後、室温で5分間静置後、上澄液をGC試料とします¹⁾。

[2] 血液中および尿中二糖類²⁾

血液または尿 1 mL からの乾燥試料に BSA : TMCS : ピリジン (1:1:2) 50 μ L または BSA : TMCS : ピリジン (1:1:5) 200 μ L を加え室温で 45 分間、または 60 $^{\circ}$ C で 20 分間反応させます。

6.2.2 アミノ酸³⁾

遊離のアミノ酸または塩酸塩 (5 ~ 10 mg) に BSA を加え、80 $^{\circ}$ C で 1 ~ 2 時間、または 90 $^{\circ}$ C で 0.5 ~ 1 時間加熱します。遊離のアミノ酸からは主としてビス-TMS 体が、塩酸塩からは主としてトリス-TMS 体が生成します。

6.2.3 カテコールアミン類⁴⁾

1 mg のノルエピネフリンをアセトニトリル 0.1 mL に溶解します。これに BSA 0.2 mL、TMCS 0.1 mL および水 2 μ L を加えます。60 $^{\circ}$ C で 2 時間反応させると、N,N,O',O''-ペンタキス-TMS 体が得られます。水を加えないと反応に 5 時間要します。

6.2.4 ステロイド

[1] ヒドロキシステロイド

立体障害のない水酸基は一般的操作法で容易に TMS 化される。水酸基の位置 (3,11,16,17,20 位など) と TMS 化剤との反応性については種々検討されています⁵⁻⁸⁾。例えば、11 β -OH は、BSA、HMDS または SIM に 10% の TMCS を、17 α -OH に対しては、BSA または SIM に 20% の TMCS を触媒として加えます⁵⁾。コルトールの完全 TMS 化も報告されています⁵⁻⁷⁾。

[2] ケトステロイドのメトキシム-TMS 化

- (1) ステロイド 2 mg にピリジン 0.5 mL とメトキシルアミン塩酸塩 8 mg を加え、60 $^{\circ}$ C で 3 時間、または室温で一昼夜反応させます。ベンゼンまたは酢酸エチルで抽出後、溶媒を窒素気流で蒸発させます。残査に 0.2 mL の BSA を加え、室温で 3 ~ 5 時間反応させます。11 β -OH を含むステロイドには触媒として TMCS を 0.005 ~ 0.1 mL 加えます⁹⁾。
- (2) ステロイド 0.1 mg にメトキシルアミンの 10% ピリジン溶液 50 μ L を加え 60 $^{\circ}$ C で 15 分間反応させメトキシム化し、これにメトキシム化剤を除かずに、SIM 50 μ L を加えて、100 $^{\circ}$ C で 2 時間反応させます。メトキシム化剤が触媒として作用し、コルトールも完全 TMS 化されます⁷⁾。

[3] ステロイドホルモン (尿中) のメトキシム-TMS 化¹⁰⁾

尿試料 5 mL から酵素加水分解、クリーンアップ操作を経た乾燥試料に、10% メトキシルアミン塩酸塩のピリジン溶液 100 μ L を加え、60 $^{\circ}$ C で 15 分間反応させメトキシム化後、ピリジンを窒素気流中で除去した後、100 μ L の BSTFA : TMCS (5:1) を加え 60 $^{\circ}$ C で 2 時間反応させ完全 TMS 化します。

[4] デキサメタゾン¹¹⁾

試料 0.1 mg にメトキシルアミン塩酸塩 5 mg を含むピリジン 50 μ L を加え、60 $^{\circ}$ C で 3 時間反応させ、20 位のカルボニル基をメトキシム化します。これに SIM 50 μ L を加え 100 $^{\circ}$ C で 6 時間反応させトリス-TMS 化します。

[5] フィトエクジソン¹²⁾

0.5 mg のステロイドを 20 μ L の SIM に溶解し 100 $^{\circ}$ C で 1 時間反応させます。全ての水酸基が TMS 化され、6 位のカルボニル基はエノール-TMS 化されません。

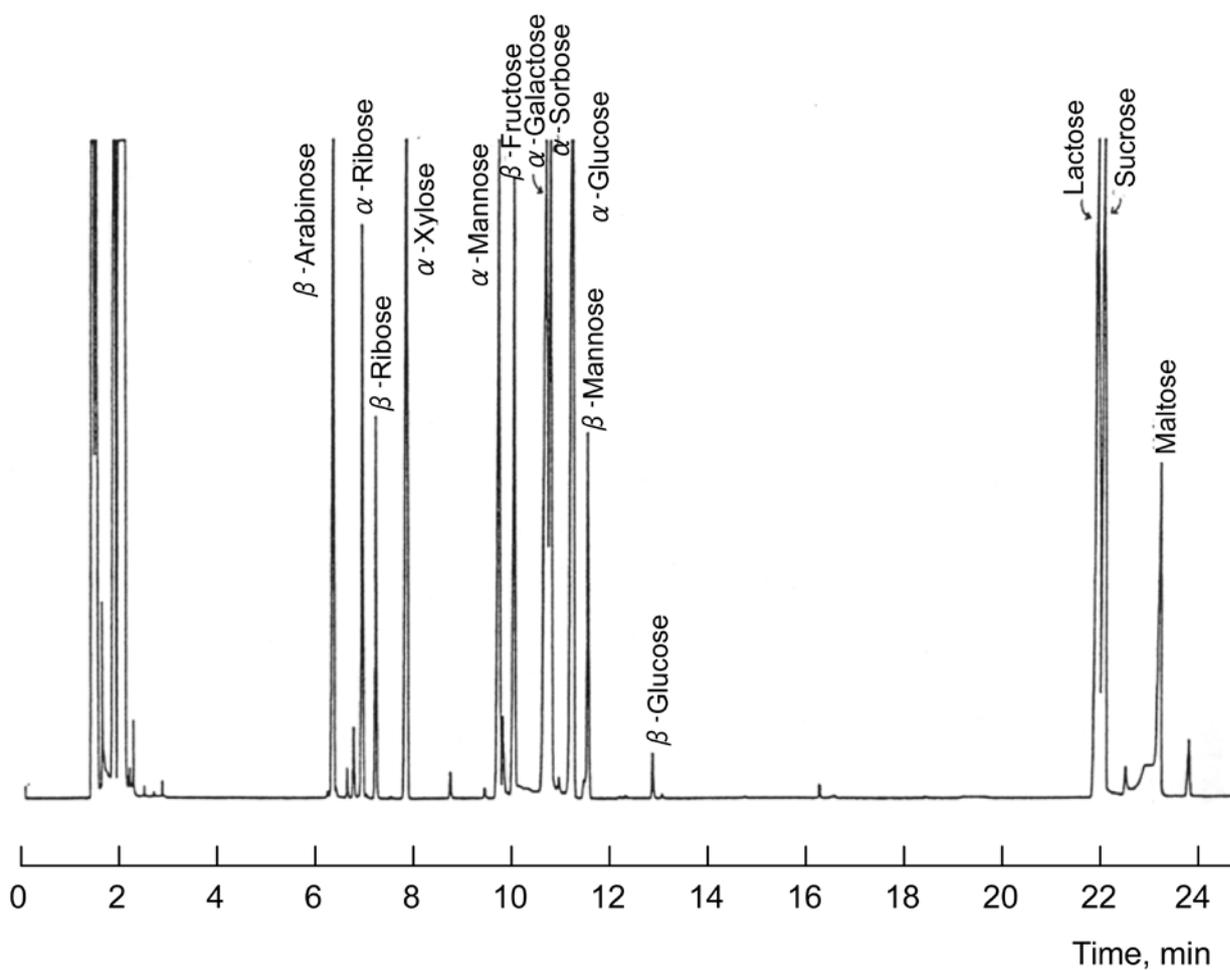
7. 文献

- 1) C. C. Sweeley, R. Bentley, M. Makita, W. W. Wells, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2497.
- 2) M. F. Laker, *J. Chromatogr.* **1979**, 163, 9.
- 3) J. Marik, A. Capek, J. Kralicek, *J. Chromatogr.* **1976**, 128, 1.
- 4) M. G. Horning, A. M. Moss, E. C. Horning, *Biochim. Biophys. Acta.* **1967**, 148, 597.
- 5) E. M. Chambaz, E. C. Horning, *Anal. Lett.* **1967**, 1, 201.
- 6) N. Sakauchi, E. C. Horning, *Anal. Lett.* **1971**, 4, 41.
- 7) J-P. Thenot, E. C. Horning, *Anal. Lett.* **1972**, 5, 21.

- 8) H. Gleispach, *J. Chromatogr.* **1974**, 91, 407.
- 9) M. G. Horning, A. M. Moss, E. C. Horning, *Anal. Biochem.* **1968**, 22, 284.
- 10) J. A. Luyten, G. A. F. M. Rutten, *J. Chromatogr.* **1974**, 91, 393.
- 11) J-P. Thenot, E. C. Horning, *Anal. Lett.* **1972**, 5, 905.
- 12) N. Ikekawa, F. Hattori, J. Rubio - Lightbourn, H. Miyazaki, M. Ishibashi, C. Mori, *J. Chromatogr. Sci.* **1972**, 10, 233.

TMS化糖のガスクロマトグラム

Column : 007-1
 25 m×0.25 mm I.D.×0.25 μm
 Temperature : 150 °C(5 °C/min) - 220 °C(10 °C/min) - 270 °C
 Detector : FID
 Inj. Mode : Split
 Carrier Gas : He 30 cm/s



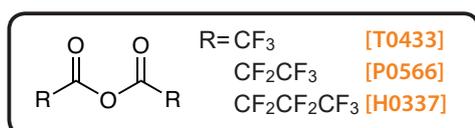
アシル化剤

Acylation Reagents

酸無水物¹⁻³⁾

Trifluoroacetic Anhydride
Pentafluoropropionic Anhydride
Heptafluorobutyric Anhydride

20 mL / 100mL / 400 mL [T0433]
5 g / 25 g [P0566]
10 g [H0337]



【使用例】 アルコール、アミンなどのトリフルオロアセチル化⁴⁾

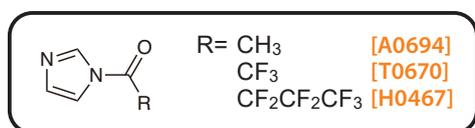
試料 1 ~ 5 mg をアセトン、塩化メチレンなどの溶媒 0.5 mL に溶解し、トリフルオロ酢酸無水物 200 μL を加え、室温で 20 ~ 30 分間反応させます (必要に応じて 40 °C 位まで加温します)。過剰の試薬、溶媒を窒素気流中で除去後アセトンなどに溶解し、GC 試料とします。

※これらに溶けにくい試料の場合は、トリフルオロ酢酸を溶媒として使用することもできます。

アシル化イミダゾール⁵⁻⁹⁾

N-Acetylimidazole
1-(Trifluoroacetyl)imidazole
1-(Heptafluorobutyryl)imidazole

25 g [A0694]
5 g / 25 g [T0670]
5 g / 25 g [H0467]

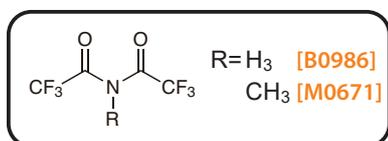


緩やかな条件でアシル化できます。生成するイミダゾールは不活性です。

フッ素化アセトアミド^{10,11)}

istrifluoroacetamide (=BTFA)
N-Methylbis(trifluoroacetamide) (=MBTFA)

5 g / 25 g [B0986]
1 mL / 5 mL [M0671]



アルコール、アミン、チオールを緩やかな条件で TFA 化することができます。

【使用例】 糖の TFA 化¹¹⁾

5 ~ 10 mg の糖混合物を約 2 mL 容のバイアルビンにとり、0.5 mL の MBTFA 次いで 0.5 mL のピリジンを加え、65 °C で約 1 時間時々振りまぜながら加熱します。試料が溶解したら反応は終了、そのまま GC 試料とします。

【文献】

- 1) *Acta Pharmaceutica Suecica* **1970**, 7, 309.
- 2) *Acta Pharmaceutica Suecica* **1971**, 8, 27.
- 3) *Acta Pharmaceutica Suecica* **1971**, 8, 319.
- 4) D. W. Armstrong, W. Li, C.-D. Chang, *Anal. Chem.* **1990**, 62, 914.
- 5) S. D. Selley, L. E. Powell, *Anal. Biochem.* **1974**, 58, 39.
- 6) F. Bennington, S. T. Christian, R. D. Morin, *J. Chromatogr.* **1975**, 106, 435.
- 7) M. G. Horning, A. M. Moss, E. A. Boucher, E. C. Horning, *Anal. Letters* **1968**, 1, 311.
- 8) N. Ikekawa, F. Hattori, J. Rubio-Lightbourn, H. Miyazaki, M. Ishibashi, C. Mori, *J. Chromatogr. Sci.* **1972**, 10, 233.
- 9) H. Miyazaki, M. Ishibashi, C. Mori, N. Ikekawa, *Anal. Chem.* **1973**, 45 (7), 1164.
- 10) M. Donike, *J. Chromatogr.* **1973**, 78, 273.
- 11) J. Sullivan, L. Schewe, *J. Chromatogr. Sci.* **1977**, 15, 196.

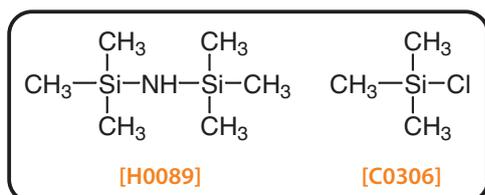
シリル化剤

Silylation Reagents

トリメチルシリル化剤

1,1,1,3,3,3-Hexamethyldisilazane (=HMDS)
Chlorotrimethylsilane (=TMCS)

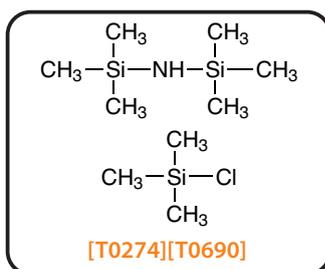
25 mL / 100 mL / 500 mL [H0089]
25 mL / 100 mL / 500 mL [C0306]



多くの場合、ヘキサメチルジシラザンとクロロトリメチルシランは共に用いられます。クロロトリメチルシランは、吸湿分解して塩化水素ガスを発生するため、取扱いに注意が必要です。

TMS-HT (=HMDS and TMCS in Anhydrous Pyridine)
TMS-HT Kit

12 mL [T0274]
Contents of the Kit: reagent (1 mL) vial×8, 2 mL empty reaction vial×8 [T0690]



ヘキサメチルジシラザンとクロロトリメチルシランを主成分とするピリジン溶液で、水酸基、カルボキシル基の TMS 化剤として広く用いられます。貯蔵中、塩化アンモニウムの結晶を析出することがありますが、上澄液を使用します。

【一般的な使用法】

1. 試料約 1 mg に TMS-HT 1 mL を加えます（反応容器としては内容量 2 mL 位のバイアルがよいです）。密栓した後振りませ（塩化アンモニウムの結晶が析出する）、上澄液を GC に注入します。場合によっては加熱し、反応を完結させる必要があります。

2. 糖 約 1 mg をピリジン 0.2 mL に溶解し、この溶液に TMS-HT 1 mL を加えます。直ちに塩化アンモニウムの白色沈澱が生成します。時々振り混ぜ、室温で約 5 分間放置後（必要であればバイアルをそのまま水浴中に投入し加熱：例えばマルトース、浴温 80 ~ 90 °C、2 ~ 3 分間）、上澄液を GC 試料とします。

注：キットに含まれる反応用密栓バイアルに液を注入する場合には、あらかじめ注射器を用いてバイアル内部を減圧状態にしておく和良好的です。糖水溶液の場合は TMS-PZ を使用します。

【使用例】

室温放置で TMS 化できるもの

アルコール（2-メチル-2-ブタノール、ステアリルアルコール、オレイルアルコールなど）^{1,2)}、糖（キシロース、セロビオース、トレハロースなど）^{3-11,27)}、アミノ糖、フェノール（*o*-クレゾール、*m*-クレゾール、*p*-クレゾール、トリクレゾール、グアヤコールなど）¹²⁾、有機酸（安息香酸、サリチル酸、ゲンチシン酸、没食子酸など）¹³⁻¹⁷⁾、アミノ酸（セリン、トレオニン、ヒドロキシプロリンなどの Dnp メチルエステル誘導体の TMS 化）¹⁸⁾、カテコールアミン¹⁹⁾、胆汁酸（メチルエステル誘導体の TMS 化）²⁰⁾、脂肪酸¹⁾、クエン酸回路の酸（ α -ケトグルタル酸、オキサリ酢酸など）²¹⁾、アルカロイド（モルフィン、コデインなど）²²⁾、ステロイド^{23,28)}。

約 100 °C、1 時間の加熱で TMS 化できるもの

糖りん酸塩（D-エリトロース-4-りん酸、D-リボース-5-りん酸、D-フルクトース-6-りん酸、D-グルコース-6-りん酸、D-グルコース-1-りん酸など）²⁴⁾、ヌクレオシド（アデノシン、イノシン、ウリジン、デオキシウリジン、チミジン、キサントシン、シチジン、グアノシンなど）^{25,26)}。

ケト酸²¹⁾

α -ケトグルタル酸やオキサリ酢酸を TMS 化するには、まずこれらのオキシムを作り、次いで TMS-オキシム誘導体になると GC で好結果が得られます。試料 10 mg、ヒドロキシリブアミン塩酸塩 10 mg を乾燥ピリジン 1 mL に溶解し、10 分間室温に放置した後、TMS-HT 1 mL を加え室温に 5 分間放置します。

[文献]

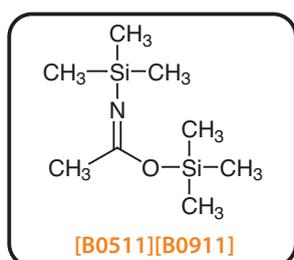
- 1) D. F. Zinkel, M. B. Lathrop, L. C. Zank, *J. Gas Chromatogr.* **1968**, 6, 158.
- 2) S. Friedman, M. L. Kaufman, *Anal. Chem.* **1966**, 38, 144.
- 3) R. J. Ferrier, M. F. Singleton, *Tetrahedron* **1962**, 18, 1143.
- 4) R. J. Ferrier, *Tetrahedron* **1962**, 18, 1149.
- 5) C. C. Sweeley, R. Bentley, M. Makira, W. W. Wells, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2497.
- 6) H. E. Brower, J. E. Jeffery, M. W. Folsom, *Anal. Chem.* **1966**, 38, 362.
- 7) J. E. Karkkainen, E. O. Haahti, A. A. Lehtonen, *Anal. Chem.* **1966**, 38, 1316.
- 8) Y. Halpern, Y. Houminer, S. Patai, *Analyst* **1967**, 92, 714.
- 9) 友田正司, 薬学雑誌 **1967**, 87, 1057.
- 10) R. Wood, *J. Gas Chromatogr.* **1968**, 6, 94.
- 11) C. C. Sweeley, B. Walker, *Anal. Chem.* **1964**, 36, 1461.
- 12) S. H. Langer, P. Pantages, I. Wender, *Chem. Ind.* **1958**, 57, 1664.
- 13) Z. Horii, M. Makita, I. Takeda, Y. Tamura, Y. Ohnishi, *Chem. Pharm. Bull.* **1965**, 13, 636.
- 14) E. R. Blakley, *Anal. Biochem.* **1966**, 15, 350.
- 15) J. P. Shyluk, C. G. Youngs, O. L. Gamborg, *J. Chromatogr.* **1967**, 26, 268.
- 16) C. A. Burkhard, *J. Org. Chem.* **1957**, 22, 592.
- 17) R. C. Mehrota, B. C. Plant, *J. Ind. Chem. Soc.* **1963**, 40, 623.
- 18) 折茂肇, 藤田拓男, 吉川政巳, 池川信夫, 医学のあゆみ **1966**, 58, 414.
- 19) S. Kawai, Z. Tamura, *J. Chromatogr.* **1966**, 25, 471.
- 20) M. Makita, W. W. Wells, *Anal. Biochem.* **1963**, 5, 523.
- 21) Z. Horii, M. Makita, Y. Tamura, *Chem. Ind.* **1965**, 1494.
- 22) G. E. Martin, J. S. Swinehart, *Anal. Chem.* **1966**, 38, 1789.
- 23) C. J. W. Brooks, J. G. Carrie, *Biochem. J.* **1966**, 99, 47P.
- 24) T. Hashizume, Y. Sasaki, *Anal. Biochem.* **1966**, 15, 346.
- 25) Y. Sasaki, T. Hashizume, *Anal. Biochem.* **1966**, 16, 1.
- 26) 橋爪斌, 佐々木幸子, 蛋白質 核酸 酵素 **1968**, 13, 735.
- 27) 正田芳郎, 橋本圭二, 井上武久, 沢田徳之助, 薬学雑誌 **1969**, 89, 734.
- 28) E. M. Chambaz, G. Maume, B. Maume, E. C. Horning, *Anal. Lett.* **1968**, 1(12), 749.

***N,O*-Bis(trimethylsilyl)acetamide (=BSA)**

10 mL / 100 mL [B0511]

***N,O*-Bis(trimethylsilyl)acetamide Kit (=BSA Kit)**

Contents of the Kit: reagent (1 mL) × 8, 2 mL blank vial for reaction×8 [B0911]



【適用】

水酸基、カルボキシル基を含む化合物の他、アミノ酸、アミドなど含窒素化合物に対しても極めて反応性に富みます（アミノ酸^{4,5,7}、アミド、尿素⁴、フェノール、カルボン酸、エノール化合物³、スルホン酸、ステロイド^{9,10,11}、核酸²、糖^{1,8}）。

【一般的使用法】

試料 10 ~ 50 mg を乾燥容器にとり、BSA を加え密栓します。必要に応じて加熱し反応させます（70 ~ 80 °C, 30 分 ~ 1 時間）。

【使用例】

ステロイド

試料 1 ~ 5 mg をピリジン 0.1 mL に溶解し、TMS- イミダゾール (=SIM) 0.2 mL を加え密栓し、室温に 30 分 ~ 1 時間放置します。通常はこのままで GC 試料とします。立体障害のある水酸基の場合には BSA、クロロトリメチルシランと一緒に用いたほうが良いです。ケトステロイドでは室温に 3 時間放置後、BSA 0.2 mL を加えて更に室温で 2 時間放置します。得られた透明溶液を GC 試料とします。本法によればカルボニル基はエノール TMS エーテルとなり、これら誘導体は GC に大変有効です。また更にクロロトリメチルシランを微量加えることにより反応が促進されます。

コルトール¹¹⁾

TMS- イミダゾール (=SIM) : BSA : クロロトリメチルシラン = 3 : 3 : 2 (容量比) で TMS 化するとペンタ-TMS- コルトールを生成します。この場合、BSA のみで TMS 化すると 3, 20 および 21 位の水酸基が、また BSA : クロロトリメチルシランでは 3, 11, 20 および 21 位の水酸基のみが TMS 化されます。

スルホン酸およびその塩

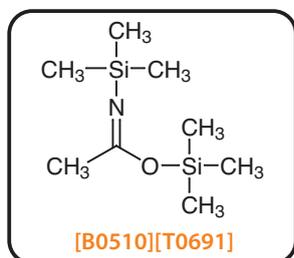
チオール誘導体とし、BSA を加えて約 80 °C で 10 分間放置し、TMS 化を行います。

***N,O*-Bis(trimethylsilyl)acetamide (25% in Acetonitrile) (=TMS-BA)**

12 mL [B0510]

***N,O*-Bis(trimethylsilyl)acetamide Kit (25% in Acetonitrile) (=TMS-BA Kit)**

Contents of the Kit: reagent (1 mL) × 8, 2 mL blank vial for reaction×8 [T0691]



冬季または冷蔵保存により二層に分離することがあります。加温し、振りまぜ、均一溶液として使用します。

【適用】

BSA に準じます。

【一般的使用法】

1. 試料約 1 mg および TMS-BA 1 mL を乾燥容器（内容量 2 mL 位のバイアルがよいです）にとります。密栓した後振りまぜるか、あるいは加熱により（例えばロイシン、スレオニンなどは 125 °C で 15 分間加熱します）反応を完了させると透明液になります。そのまま GC に注入します。
2. ステロイド約 0.5 ~ 1 mg を適当な溶媒（ピリジン、アセトニトリルなど）0.05 ~ 0.1 mL に溶解し、TMS-BA 1 mL 中に注入します。室温に放置するか、あるいはバイアルをそのまま水浴中で加熱反応（例えばエストリオール、浴温 78 ~ 80 °C、20 分間）させて GC 試料とします。

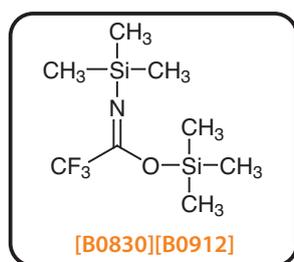
注：キットに含まれる反応用密栓バイアルに液を注入する場合には、あらかじめ注射器を用いてバイアル内部を減圧状態にしておくが良いです。

***N,O*-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (=BSTFA)**

5 mL / 25 mL / 100mL [B0830]

***N,O*-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide Kit (=BSTFA Kit)**

Contents of the Kit: reagent (1mL) vial×8, 2mL empty reaction vial×8 [B0912]



BSA に準じるが BSA よりも活性、揮発性、溶解性が強く、水素炎イオン化検出器 (FID) に対して有効です。BSA よりも優れている点は、副生成物の揮発性が高いため、GC 上で分析の障害とならないことです。特にアミノ酸^{4-6,13,14)} の TMS 化 (例えばアラニン、バリンなどは 125 °C で 15 分間加熱します) に適しています。

【使用例】

アミノ酸¹²⁾

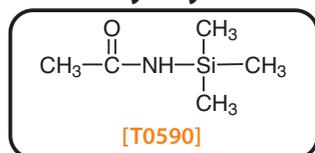
乾燥した試料 1 mg をバイアルにとり、アセトニトリル 0.24 mL と BSTFA 0.24 mL を加えます。密栓して溶液状態になるまで振りまぜます。次いで油浴中 (150 °C) で 15 分間加熱します。冷却後 GC 試料とします。

【文献】

- 1) 水沼寛, 皆川和, 医学のあゆみ **1968**, 65, 679.
- 2) 橋爪斌, 佐々木幸子, 蛋白質 核酸 酵素 **1968**, 13, 735.
- 3) 伊藤寿美子, 仁科甫啓, 北村元仕, 臨床病理 **1968**, 16, 599.
- 4) F. Shahrokhi, C. W. Gehrke, *J. Chromatogr.* **1968**, 36, 31.
- 5) E. D. Smith, K. L. Shewbart, *J. Chromatogr. Sci.* **1969**, 7, 704.
- 6) M. R. Guerin, W. D. Shults, *J. Chromatogr. Sci.* **1969**, 7, 701.
- 7) K. A. Caldwell, A. L. Tapple, *J. Chromatogr.* **1968**, 32, 635.
- 8) 正田芳郎, 橋本圭二, 井上武久, 沢田徳之助, 薬学雑誌 **1969**, 89, 734.
- 9) E. C. Horning, M. G. Horning, N. Ikekawa, E. M. Chambaz, P. I. Jaakonmaki, C. J. W. Brooks, *J. Gas Chromatogr.* **1967**, 5, 283.
- 10) E. M. Chambaz, G. Maume, B. Maume, E. C. Horning, *Anal. Lett.* **1968**, 1(12), 749.
- 11) E. M. Chambaz, E. C. Horning, *Anal. Lett.* **1967**, 1(3), 201.
- 12) C. W. Gehrke, K. Leimer, *J. Chromatogr.* **1971**, 57, 219.
- 13) C. W. Gehrke, H. Nakamoto, R. W. Zumwalt, *J. Chromatogr.* **1969**, 45, 24.
- 14) C. W. Gehrke, K. Leimer, *J. Chromatogr.* **1970**, 53, 201.
- 15) K. Bergström, J. Gürtler, R. Blomstrnd, *Anal. Biochem.* **1970**, 34, 74.

***N*-Trimethylsilylacetamide (=N-TMS-acetamide)**

25 g [T0590]



【使用例】

アスコルビン酸 (ビタミン C)

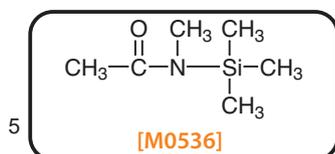
試料 50 mg およびオクタデカン 50 mg (内部標準物質) を乾燥ピリジン 10 mL に溶かし、N-TMS-acetamide 1.5 g を加え、室温で 4 時間以上放置します。

【文献】

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

N-Methyl-N-trimethylsilylacetamide (=N-Methyl-N-TMS-acetamide)

10 g / 25 g [M0536]



【使用例】

アミノ酸

試料 1 ~ 2 mg をバイアルにとり、N-Methyl-N-TMS-acetamide 0.1 mL を加え密栓し、室温で分間攪拌します。もし試料が溶解しない場合は、60 ~ 100 °C に加熱します。反応が完了すると透明液となります。そのまま GC に注入します。

その他

アミン、脂肪酸、ポリアルコール、糖、フェノール、アルキルアミン。

【取り扱い注意事項】

湿気を避けて使用してください。

不活性ガスを充填し、密栓して冷蔵庫に保存してください。

蒸気を吸入しないでください。

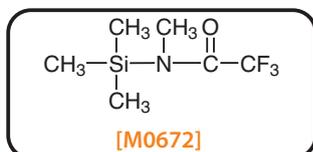
皮膚、眼および衣服との接触を避けてください。

【文献】

L. Birkofer, M. Donike, *J. Chromatogr.* **1967**, 26, 270.

N-Methyl-N-trimethylsilyltrifluoroacetamide (=MSTFA)

5 mL / 25 mL [M0672]



BSTFA や BSA よりも揮発性があります¹⁾。副生成物である N-メチルトリフルオロアセトアミドは、MSTFA よりも更に小さい保持値を示すので、ピークの重なりを防げます。ステロイドの TMS 化においては、BSTFA や BSA よりも強い作用があります²⁾。アミン塩酸塩を直接 TMS 化できます。

【文献】

1) M. Donike, *J. Chromatogr.* **1969**, 42, 103.

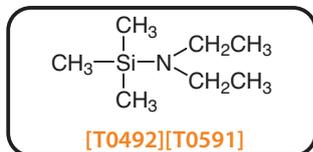
2) H. Gleispach, *J. Chromatogr.* **1974**, 91, 407.

N-(Trimethylsilyl)diethylamine (=TMS-DEA)

25 mL [T0492]

N-(Trimethylsilyl)dimethylamine (=TMS-DMA)

25 mL [T0591]



【使用例】

アミノ酸¹⁻⁴⁾

試料に対して、100 mol% 過量の TMS-DEA または TMS-DMA (通例 1.5 ~ 2.0 mL を使用します) を加え、加熱還流して透明溶液とします (生成したジエチルアミンまたはジメチルアミンを蒸留して除去することが望ましいです)。冷却後、ベンゼンを加え適当な濃度とし、そのまま GC 試料とします。触媒として、クロロトリメチルシランやトリクロロ酢酸を少量を加えると更に良い結果が得られます。本法はアミノ酸以外の試料にも適用できます。

尿中脂肪酸

試料 (微量) を乾燥ピリジン 0.1 mL に溶かし、TMS-DEA または TMS-DMA 0.15 mL およびクロロトリメチルシラン 0.1 mL を加え、室温で放置します。

【文献】

1) E. D. Smith, H. Sheppard, *Nature* **1965**, 208, 878.

2) K. Rühlmann, W. Giesecke, *Angew. Chem.* **1961**, 73, 113.

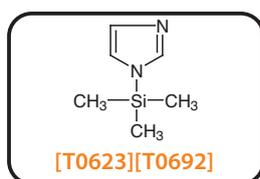
3) P. S. Mason, E. D. Smith, *J. Gas Chromatogr.* **1966**, 4, 398.

4) E. D. Smith, K. L. Shewbart, *J. Chromatogr. Sci.* **1969**, 7, 704.

TMS-PZ (=N-Trimethylsilylimidazole in Anhydrous Pyridine)
TMS-PZ Kit

12 mL [T0623]

Contents of the Kit: reagent (1 mL) vial × 8, 2 mL blank vial × 8 [T0692]



糖水溶液の TMS 化に効力を発揮します。通常、TMS 化剤を使用する際は乾燥状態で使用する必要がありますが、TMS-PZ は糖の場合では水溶液のまま使用できます。

【使用例】

糖の 10% 水溶液 5 ~ 10 μL を TMS-PZ 1 mL 中に注入します。少し発熱して 30 秒間振り混ぜた後、室温に約 5 分間放置するか、あるいは 60 ~ 70 °C に加熱します（例えば、ラフィノース、浴温 60 ~ 70 °C、15 分間）。透明溶液とし、そのまま GC に注入します。

注：反応用密栓バイアルに液を注入する場合には、あらかじめ注射器を用いてバイアル内部を減圧状態にしておくといいです。

【取扱い注意事項】

不活性ガスを充填し、密栓して冷蔵庫に保存してください。

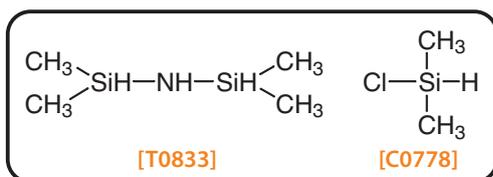
蒸気を吸入しないでください。

皮膚、眼および衣服との接触を避けてください。

ジメチルシリル化剤

1,1,3,3-Tetramethyldisilazane (=TMDS)
Chlorodimethylsilane (=DMCS)

5 mL / 25 mL [T0833]
25 mL / 250 mL [C0778]



TMS 体より揮発性の大きいジメチルシリルエーテル誘導体を調製する試薬です。TMDS と DMCS（触媒として作用する）を一緒に用います。

【取扱い注意事項】

DMCS は湿気に触れると分解して塩化水素ガスを発生します。

【文献】

- 1) W. R. Supina, *et al.*, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1967**, *44*, 74.
- 2) W. J. A. Vanden Heuvel, *J. Chromatogr.* **1967**, *27*, 85.
- 3) W. W. Wells, *et al.* in "*Biomedical Applications of Gas Chromatography*" ed. by H. A. Szymanski, Plenum Press, New York, **1964**, 199.

ジメチルアルキルシリル化剤

1-(Dimethylethylsilyl)imidazole

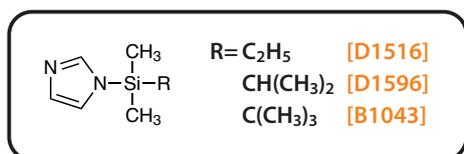
1 g / 5 g [D1516]

1-(Dimethylisopropylsilyl)imidazole

1 g / 5 g [D1596]

1-(tert-Butyldimethylsilyl)imidazole

1 g / 5 g [B1043]



ヒドロキシステロイドの GC-MS による構造解析に用います。プロスタグランジン、胆汁酸、トロンボキサンに用います。

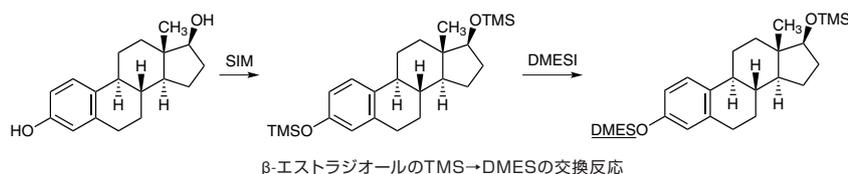
ヒドロキシステロイドのガスクロマトグラフィー質量分析 (GC-MS) においては、誘導体調製試薬として TMS- イミダゾール (=SIM) などの TMS 化剤が使用されていますが、未知化合物の構造解析をする際に、アルコール性とフェノール性水酸基の区別が困難な場合があります。

このような欠点を補う目的で研究、開発された試薬が、ここに紹介する標題のジメチルアルキルシリル (DMAS) 化剤です^{1-3,9)}。

これらの DMAS 化剤は、TMS- イミダゾールの一つのメチル基をアルキル基に置換したものです。水酸基との反応は TMS 化剤と同様に室温で速やかに進みます (立体障害を受ける水酸基を有する場合は、100 °C に加熱する必要があります)。

生成する DMAS エーテルは、対応する TMS エーテルよりも安定性が高く、かつ、GC における分離能がよいです。TMS 化体とのメチレンユニット (MU) の比較により水酸基の数を知ることができます。MS によるステロイド類の構造解析が容易になるなどの特長を持っています。プロスタグランジン^{6,10,12-14)}、胆汁酸^{4,5,7,11)} などの生体試料の微量分析にも使用されています⁸⁾。

フェノール性水酸基の TMS 化体は、“Sandwich injection” により、GC インジェクション中で DMAS 化体に交換反応する特性があり (DMAS 基 → TMS 基へも交換反応する)、この反応性を利用して GC-MS でアルコール性とフェノール性的水酸基の区別が可能になっています。



以下に β-エストラジオールの 1-(ジメチルエチルシリル)イミダゾール (DMESI) によるシリル化 (Sandwich injection) の例を示します。

【使用例】 (試料: β-エストラジオール)

I. “Sandwich injection” による TMS → ジメチルエチルシリル (DMES) 交換反応操作

- β-エストラジオール - ビス -TMS- エーテルの調製: 密栓できるバイアルに β-エストラジオール 0.1 mg を入れ、TMS- イミダゾール 20 μL を加えて溶かします。室温で 30 分間反応させます。
- Sandwich injection :
マイクロシリンジに DMESI 0.2 μL、1. で調製した溶液 0.1 μL、更に DMESI 0.2 μL の順で採取し、これを一度に GC に注入します。

II. ガスクロマトグラム

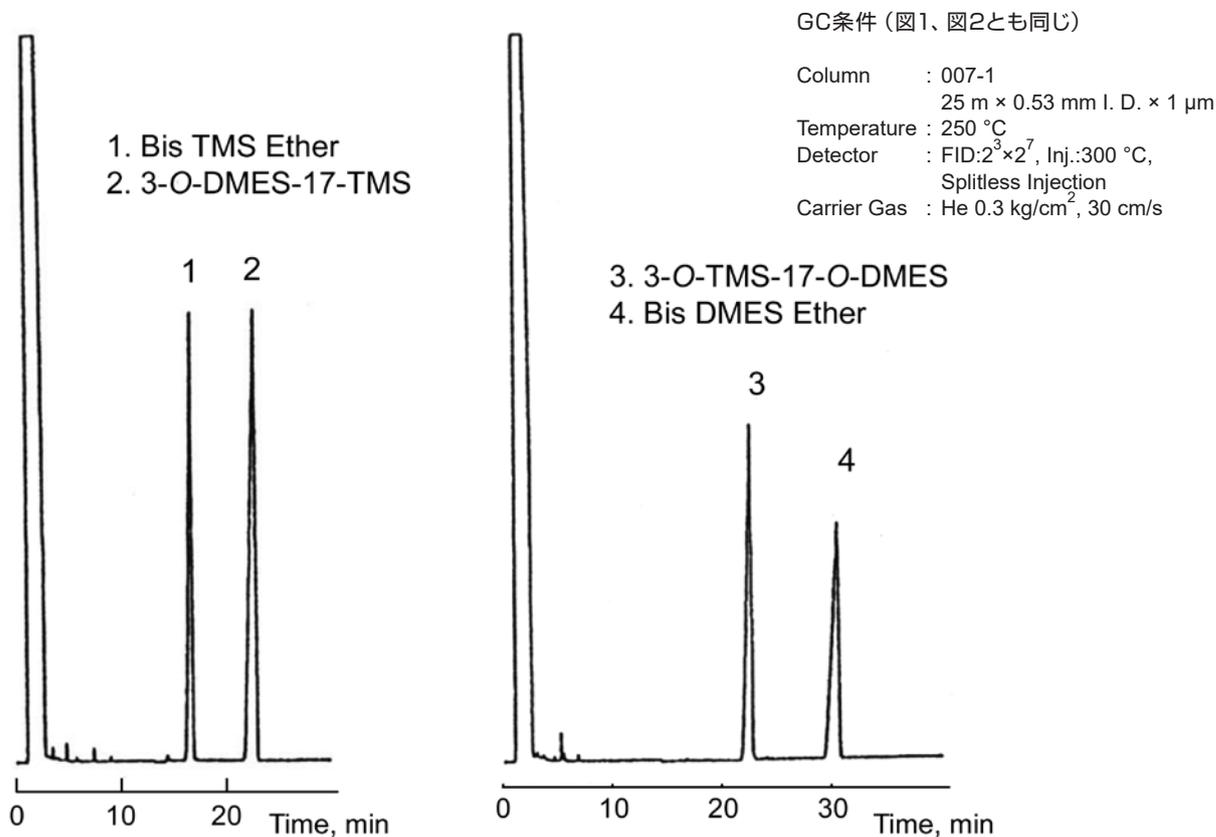


図1. TMS→DMES

図2. DMES→TMS

[文献]

- 1) H. Miyazaki, M. Ishibashi, M. Itoh, T. Nambara, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **1975**, 23, 3033.
- 2) H. Miyazaki, M. Ishibashi, M. Itoh, T. Nambara, *Biomed. Mass Spectrom.* **1977**, 4, 23.
- 3) H. Miyazaki, M. Ishibashi, M. Itoh, K. Yamashita, T. Nambara, *J. Chromatogr.* **1977**, 133, 311.
- 4) Y. Nishikawa, K. Yamashita, M. Ishibashi, H. Miyazaki, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **1978**, 26, 2922.
- 5) H. Miyazaki, M. Ishibashi, K. Yamashita, *Biomed. Mass Spectrom.* **1978**, 5, 469.
- 6) H. Miyazaki, M. Ishibashi, K. Yamashita, M. Katori, *J. Chromatogr.* **1978**, 153, 83.
- 7) A. Fukunaga, Y. Hatta, M. Ishibashi, H. Miyazaki, *J. Chromatogr.* **1980**, 190, 339.
- 8) 山下幸和, 宮崎浩, *バイオメディカルクロマトグラフィー第1集* p.95 (化学の領域増刊132号) 南江堂 (1981).
- 9) H. Miyazaki, M. Ishibashi, K. Yamashita, *Biomed. Mass Spectrom.* **1979**, 6, 57.
- 10) H. Miyazaki, M. Ishibashi, H. Takayama, K. Yamashita, I. Suwa, M. Katori, *J. Chromatogr.* **1984**, 289, 249.
- 11) S.H.G. Andersson, J. Sjövall, *J. Chromatogr.* **1984**, 289, 195.
- 12) H. Miyazaki, M. Ishibashi, K. Yamashita, Y. Nishikawa, M. Katori, *Biomed. Mass Spectrom.* **1981**, 8, 521.
- 13) H. Miyazaki, *et al.*, *J. Chromatogr.* **1982**, 239, 595.
- 14) Y. Harada, H. Miyazaki, *et al.*, *Prostaglandins* **1982**, 23, 881.

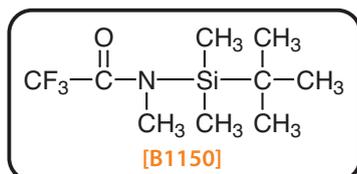
[関連製品]

| | |
|---|----------------------------|
| Dimethylethylchlorosilane | 5 g / 25 g [D0135] |
| Chlorodimethylpropylsilane | 5 mL / 25 mL [D1590] |
| Dimethylisopropylchlorosilane | 5 mL / 25 mL [D1594] |
| tert-Butyldimethylchlorosilane | 5 g / 25 g / 100 g [B0995] |
| N-Trimethylsilylimidazole | 25 g / 100 g [T0585] |
| N-(tert-Butyldimethylsilyl)-N-methyltrifluoroacetamide | 1 g / 10 g [B1150] |

tert-ブチルジメチルシリル化剤

N-(tert-Butyldimethylsilyl)-N-methyltrifluoroacetamide (=MTBSTFA)

1 g / 10 g [B1150]



水酸基、カルボキシル基、メルカプト基、アミノ基の tert-ブチルジメチルシリル (TBDMS) 化に用います。

tert-ブチルジメチルシリル (TBDMS) 誘導体は、水、Wittig 試薬、CrO₃、RMgX、RLi などに対して安定で、取扱いが容易です。そのため、天然物の合成、GC-MS 分析などに広く利用されています。

TBDMS 化剤としては TBDMS-Cl / イミダゾール / DMF 系¹⁾ が一般に用いられていますが、メルカプト基、アミノ基、立体障害のある水酸基などの TBDMS 化は困難です。MTBSTFA はこれらに対しても効果的な TBDMS 化剤です。反応は、室温下、5 ~ 20 分間で完結し、反応混合物を直接 GC に注入することができます。

各種チオール^{2,15)}、アミン²⁾、ポリアミン⁵⁾、アミノ酸^{2,6,8,9)}、ジペプチド¹¹⁾、ケトン体ターンオーバー^{6,7)}、脂肪酸^{6,10,13, 16)}、ヒドロキシエイコサテトラエン酸^{12, 14)} およびロイコトリエン¹²⁾、アルキルホスホン酸¹⁷⁾ の GC および GC-MS 分析、プロスタグランジンの GC-MS 分析³⁾ および含酸素陰イオンの GC-MS 分析⁴⁾ などに利用されています。

【文献】

- 1) E. J. Corey, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94, 6190.
- 2) T. P. Mawhinney, *et al.*, *J. Org. Chem.* **1982**, 47, 3336.
- 3) A. C. Bazan, *et al.*, *J. Chromatogr.* **1982**, 236, 201.
- 4) T. P. Mawhinney, *J. Chromatogr.* **1983**, 257, 37.
- 5) N. G. Lay-Keow, *J. Chromatogr.* **1984**, 314, 455.
- 6) W. F. Schwenk, *et al.*, *Anal. Biochem.* **1984**, 141, 101.
- 7) J. M. Miles, *et al.*, *Anal. Biochem.* **1984**, 141, 110.
- 8) C. J. Biermann, *et al.*, *J. Chromatogr.* **1986**, 357, 330.
- 9) T. P. Mawhinney, *et al.*, *J. Chromatogr.* **1986**, 358, 231.
- 10) T. P. Mawhinney, *et al.*, *J. Chromatogr.* **1986**, 361, 117.
- 11) M. E. Corbett, *et al.*, *J. Chromatogr.* **1987**, 419, 263.
- 12) S. Steffenrud, *et al.*, *J. Chromatogr.* **1987**, 423, 1.
- 13) K. Kim, *et al.*, *HRC&CC* **1987**, 10, 522.
- 14) S. Steffenrud, *et al.*, *J. Chromatogr.* **1987**, 416, 219.
- 15) D. C. Landrum, T. P. Mawhinney, *J. Chromatogr.* **1989**, 483, 21.
- 16) K. R. Kim, *et al.*, *J. Chromatogr.* **1989**, 468, 289.
- 17) J. G. Purdon, *et al.*, *J. Chromatogr.* **1989**, 475, 261.

【関連製品】

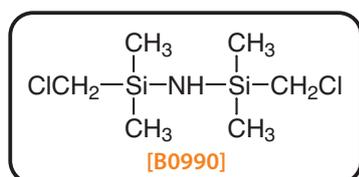
1-(tert-Butyldimethylsilyl)imidazole
Allyldimethylsilyl Chloride

1 g / 5 g [B1043]
10 mL / 25 mL [A1275]

ハロメチルジメチルシリル化剤 [GC-ECD用]

1,3-Bis(chloromethyl)tetramethyldisilazane

5 g [B0990]



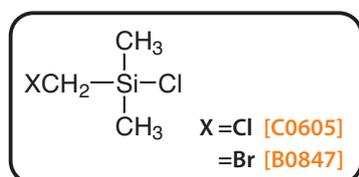
【適用】

酸²⁾、フェノール²⁾、ステロイド^{1,3)}、糖。
CMDMCS と共に用います。

(Chloromethyl)dimethylchlorosilane (=CMDMCS) (Bromomethyl)dimethylchlorosilane (=BMDMCS)

25 g / 250 g [C0605]

5 g / 25 g [B0847]



ハロメチルシリル化剤は、ECD (Electron Capture Detector : 電子捕獲検出器) を用いて微量成分の検出を行うときに非常に効果的です。

【適用】

酸²⁾、フェノール²⁾、ステロイド¹⁾

【使用例】

ハロメチルジメチルシリルジエチルアミン調製液を使用する方法^{1,2)}

密栓できる容器中にヘキサン 1 mL、ジエチルアミン 0.075 mL、(ハロメチル)ジメチルクロロシラン 0.09 mL を混合し、遠心分離します。上澄液 0.4 mL を試料 100 µg を含む酢酸エチル溶液 0.1 mL に加え、65 °C で 30 分間還流します。次いで、すみやかに室温まで冷却し、ヘキサンを加えて適当な濃度とし GC に注入します。

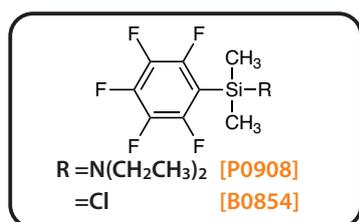
【文献】

- 1) C. Eaborn, D. R. M. Walton, *Chem. & Ind.* **1967**, 827.
- 2) C. A. Bache, L. E. St. John, D. J. Lisk, *Anal. Chem.* **1968**, 40, 1241.
- 3) B. S. Thomas, D. R. M. Walton, "The Gas Liquid Chromatography of Steroids" ed. by J. K. Grant, p199.

ペンタフルオロフェニルジメチルシリル化剤 [GC-ECD用]

Pentafluorophenyldimethylchlorosilane (=Flopemesyl Chloroide)

1 mL / 5 mL [P0854]



【使用例】

アルコール類

試料 (一級アルコール) をピリジンに溶かし、ペンタフルオロフェニルジメチルシリルジエチルアミンとペンタフルオロフェニルジメチルクロロシランの1:1混合液を加えます。直ちにGC-ECD分析に使用できます。GC-MS分析においても高感度、選択的な検出が可能です。なお、一般的な三級アルコールの場合は25 °Cで10分間反応させると誘導体化が完結します。

【文献】

- P. W. Burkinshaw, E. D. Morgan, *J. Chromatogr.* **1977**, 132, 548.

エステル化剤

Esterification Reagents

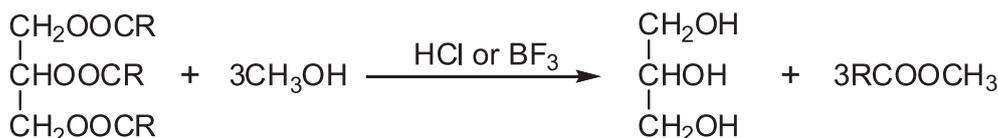
酸触媒—無水アルコール溶液

| | | |
|--|------------------------|---------|
| BCl₃ - Methanol Reagent (5-10%) | 1 mL×10 | [X0033] |
| BCl₃ - 2-Chloroethanol Reagent (5-10%) | 1 mL×10 | [X0032] |
| BF₃ - Butanol Reagent (10-20%) | 1 mL×10 | [X0034] |
| BF₃ - Isopropanol Reagent (10-20%) | 1 mL×10 | [X0035] |
| BF₃ - Propanol Reagent (10-20%) | 1 mL×10 | [X0037] |
| BF₃ - Methanol Reagent (10-20%) | 1 mL×10 | [X0036] |
| HBr - Ethanol Reagent (10-20%) | 25 mL / 100mL / 500 mL | [H0959] |
| HBr - Methanol Reagent (5-10%) | 25 mL / 500 mL | [X0043] |
| HCl - Butanol Reagent (5-10%) | 1 mL×10 | [X0039] |
| HCl - Methanol Reagent (5-10%) | 25 mL / 100mL / 500 mL | [X0041] |

使用法はエステル化剤の種類、または使用目的により異なります。代表的な使用例を示しますが、詳しくは文献を参照してください。

【一般的な操作法】

- ・ 試料（例えばステアリン酸またはリノレン酸）500 mgをすり合わせた試験管に取り、HCl-MeOHまたはBF₃-MeOH 1 mLを加えます。還流冷却器をつけて約30分～1時間加熱還流します。室温まで冷却した後、蒸留水 1 mLを加えます。次いでヘキサン 1 mLを加え抽出します。ヘキサン溶液をGC分析用試料とします。
- ・ 生体試料から抽出して得られる微量の脂肪酸はエステル化した後、不鹸化物を含む試料からエステルのみをmicrosublimationによって得る方法があります¹⁾。
- ・ 油脂から遊離脂肪酸のみを樹脂(Amberlite IRA-400)に吸着させ、樹脂上で直接エステル化し抽出する方法もあります⁵⁾。
- ・ グリセリドの脂肪酸組成分析では、鹸化して遊離脂肪酸にした後にエステル化するのもよいですが、エステル基交換により直接エステルを得る方法が操作も一段階で済み便利です。



【警告】

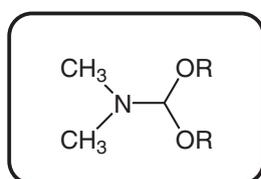
目、皮膚、気管を刺激し、腐食性を有しています。容器の内圧が高くなることがあります。冷却した後、保護具着用の上、十分な注意のもとにご開封ください。

【文献】

- 1) Esterification with HCl-alkanol
W. Stoffel, *Anal. Chem.* **1959**, 31, 307.
- 2) Esterification with BF₃-alkanol
L. D. Metcalfe, *Anal. Chem.* **1961**, 33, 363.
- 3) Ester interchange with HCl-alkanol
M. E. Mason, *Anal. Chem.* **1964**, 36, 583.
- 4) Ester interchange with BF₃-alkanol
F. E. Luddy, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1968**, 45, 549.
- 5) Esterification of absorbed fatty acid on resin
Hornstein, *Anal. Chem.* **1960**, 32, 540.
- 6) Esterification with BCl₃-2-Chloroethanol
D. D. Woodhem, *J. Agr. Food Chem.* **1971**, 19, 186.

ジメチルホルムアミドジアルキルアセタール

| | |
|---|----------------------|
| <i>N,N</i>-Dimethylformamide Dimethyl Acetal | 25 mL [D2071] |
| <i>N,N</i>-Dimethylformamide Dimethyl Acetal | 0.5 mL×10 [D1332] |
| <i>N,N</i>-Dimethylformamide Diethyl Acetal | 5 mL / 25 mL [D1294] |
| <i>N,N</i>-Dimethylformamide Dipropyl Acetal | 5 mL / 25 mL [D1301] |
| <i>N,N</i>-Dimethylformamide Dibutyl Acetal | 5 mL / 25 mL [D1302] |
| <i>N,N</i>-Dimethylformamide Di-<i>tert</i>-butyl Acetal | 5 mL / 25 mL [D1303] |
| <i>N,N</i>-Dimethylformamide Dineopentyl Acetal | 5 mL / 25 mL [D1595] |



これらの化合物 (*N,N*-Dimethylformamide Dineopentyl Acetal は除く) は、脂肪酸に対してはエステル化剤として作用し、対応するアルキルエステルを容易に生成します。アミノ酸に対しては一段階で *N*-ジメチルアミノメチレン-*O*-アルキルエステルを生成するという興味ある試薬です。いずれも液体であり、湿気を防いで保存すれば、比較的安定です。

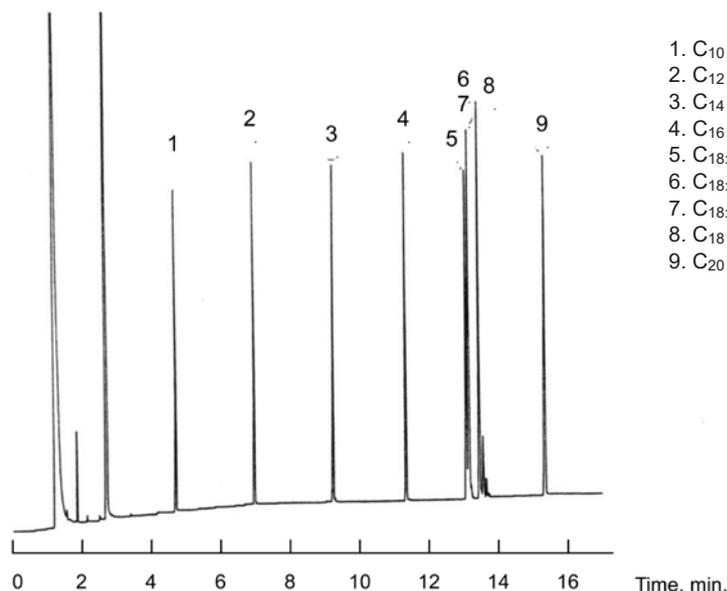
[使用例]

1. 脂肪酸のエステル化¹⁾



脂肪酸 約 5 mg をバイアルにとり、エステル化剤 100 μ L を加えます。試料が溶解すると同時に反応は完了します。反応液はそのまま GC に注入できます。

本法においては反応後における水洗、抽出、濃縮の操作を必要としません。また反応中に水を生成しません。反応は通常、反応混合物が溶液状態になれば完了します。試料が長鎖の固体の場合などには溶媒を加えて少し加熱して反応させます。試薬そのものは特に良好な溶媒とはいえません。試料によって各種の溶媒 (例えばピリジン、ベンゼン、メタノール、クロロホルム、塩化メチレン、THF、DMF など) を併用すると反応完結に要する時間を短縮できることがあります。



脂肪酸混合物のDMF-DMAによるメチルエステル化クロマトグラム

GC条件

| | | |
|----------------------|-------------|--|
| 1. C ₁₀ | Column | : 007-1, |
| 2. C ₁₂ | | 25 m × 0.25 mm I. D. × 0.25 μ m |
| 3. C ₁₄ | Temperature | : 100 °C - (10 °C/min) - 240 °C |
| 4. C ₁₆ | Detector | : FID: 2 ³ ×2 ⁵ |
| 5. C _{18:2} | Injection | : 300 °C |
| 6. C _{18:1} | Carrier Gas | : He: 0.9 kg/cm ² , 30 cm/s |
| 7. C _{18:3} | | |
| 8. C ₁₈ | | |
| 9. C ₂₀ | | |

2. アミノ酸との反応²⁾

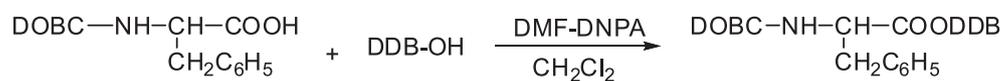


反応混合物が溶液状態になれば反応は完了します。各種の反応溶媒を使えるが特にアセトニトリルが良いです。ほとんどのアミノ酸はアセトニトリル溶液 (1 : 1) 中、100 °C、20 分間で反応は完結します。しかしアスパラギン酸は更に反応時間を要します。

この反応ではアミノ酸の *N*-ジメチルアミノメチレンアルキルエステルが得られます。

3. *N,N*-Dimethylformamide Dineopentyl Acetal (=DMF-DNPA)^{3,4)}

DMF-DNPA は、自らはエステル化剤として作用せずエステル化の仲立ちとなる試薬です。



room temp. 46 hrs

DOBC=*n*-C₁₀H₂₁O-C₆H₄CH₂O-CO-

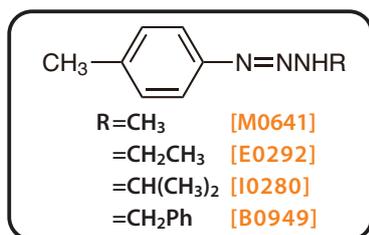
DDB=*n*-C₁₂H₂₅-C₆H₄.CH₂-

【文献】

- 1) J. P. Thenot, E. C. Horning, M. Stafford, M. G. Horning, *Anal. Lett.* **1972**, 5, 217.
- 2) J. P. Thenot, E. C. Horning, *Anal. Lett.* **1972**, 5, 519.
- 3) A. Kirrman, J. J. Delpuech, *Compt. Rend.* **1965**, 260, 6600.
- 4) J. J. Delpuech, *Bull. Soc. Chim. France* **1966**, 1624.

1-アルキル-3-*p*-トリルトリアゼン

| | |
|---|--------------------|
| 1-Methyl-3- <i>p</i> -tolyltriazenes | 1 g / 25 g [M0641] |
| 1-Ethyl-3- <i>p</i> -tolyltriazenes | 1 g [E0292] |
| 1-Isopropyl-3- <i>p</i> -tolyltriazenes | 1 g [I0280] |
| 1-Benzyl-3- <i>p</i> -tolyltriazenes | 1 g / 25 g [B0949] |

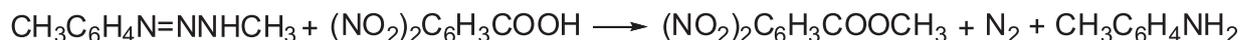


1-アルキル-3-*p*-トリルトリアゼン類はカルボン酸のエステル化において穏やかな反応条件で速やかに反応し、目的物を高収率で与えます¹⁾。

その他の用途としてはフェノール²⁾、イミド、エノール化ケトン³⁾のアルキル化剤として、またトリメトキシアルミニウムのような触媒の存在下でアルコール³⁾やメルカプタン⁴⁾のアルキル化が報告されています。

【使用例】

1. 3,5-ジニトロ安息香酸のメチルエステル化^{1b)}



1-メチル-3-*p*-トリルトリアゼン (1.05 g, 7.0 mM) のエーテル (10 mL) 溶液に試料の酸 (1.50 g, 7.1 mM) のエーテル (25 mL) 溶液をゆっくり加えます。時々静かに振りまぜます。添加中 N₂ が発生し反応液は赤くなります。N₂ の発生が終わったならば (約 1 時間を要す)、エーテル溶液を 5N 塩酸で洗って副生物のトルイジンを除きます。次いで 5% 炭酸ナトリウム水溶液で洗って最後に無水ポウ硝で乾燥します。エーテルを留去しメチルエステル (1.11 ~ 1.42 g, 70 ~ 90%、淡黄褐色晶、mp106 ~ 107.5 °C) を得ます。エーテルから再結晶して小板晶 (mp107 ~ 107.5 °C) を得ます。本法と同様にして対応するその他のトリアゼンにより各種のエステルが調製できます。

2. 脂肪酸のメチルエステル化および GC への応用

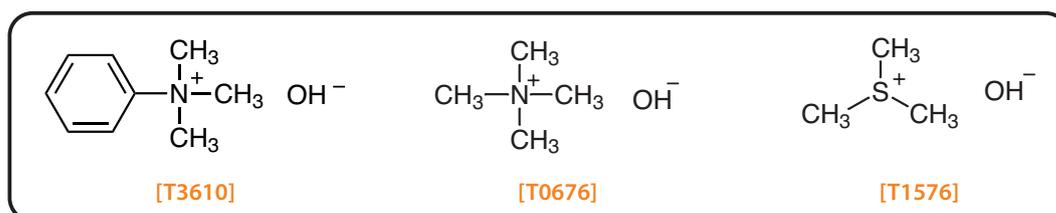
小型すり合わせフラスコに脂肪酸混合物 約 50 mg をとり 1-アルキル-3-*p*-トリルトリアゼンの 10% エーテル溶液 1 mL を加えます。水浴上 30 分間還流します。冷却後ヘキサン 1 mL と塩酸 (1 : 10) 1 mL を加えて振りまぜます (この時ガスが発生するので容器は開放して行うこと)。しばらく静置した後ヘキサン層の 1 μL を GC に注入します。

【文献】

- 1) a) E. H. White, H. Scherrer, *Tetrahedron Lett.* **1961**, 21, 758.
b) E. H. White, A. A. Baum, D. E. Eitel, *Org. Synth.* **1968**, 48, 102.
c) *Ukrain. Khim. Zhur.* **1952**, 18, 631.
- 2) *Ukrain. Khim. Zhur.* **1954**, 20, 284.
- 3) *Ukrain. Khim. Zhur.* **1955**, 21, 496.
- 4) *Ukrain. Khim. Zhur.* **1955**, 21, 628.

オンカラムメチルエステル化剤

| | | |
|--|------------------------|---------|
| Phenyltrimethylammonium Hydroxide (=PTAH) (8.5% in Methanol) | 25 mL / 100mL | [T3610] |
| Tetramethylammonium Hydroxide (=TMAH) (10% in Methanol) | 25 mL / 100mL / 500 mL | [T0676] |
| Trimethylsulfonium Hydroxide (0.2mol/L in Methanol) | 5 mL / 25mL | [T1576] |



ガスクロマトグラフの試料気化室におけるメチル化剤 (On-Column Methylation) としての Phenyltrimethylammonium Hydroxide (20-25% in Methanol) (=PTAH) と Tetramethylammonium Hydroxide (10% in Methanol) (=TMAH) の応用例を以下に示します。

【使用例】

脂肪酸のメチルエステル化

熱に不安定で比較的極性の高い脂肪酸の GC 分析にはジアゾメタンによるエステル化がよく行われています。しかしながら、この試薬は毒性、爆発性があり手軽には扱い難く、また反応も定量的には進まない欠点があります。

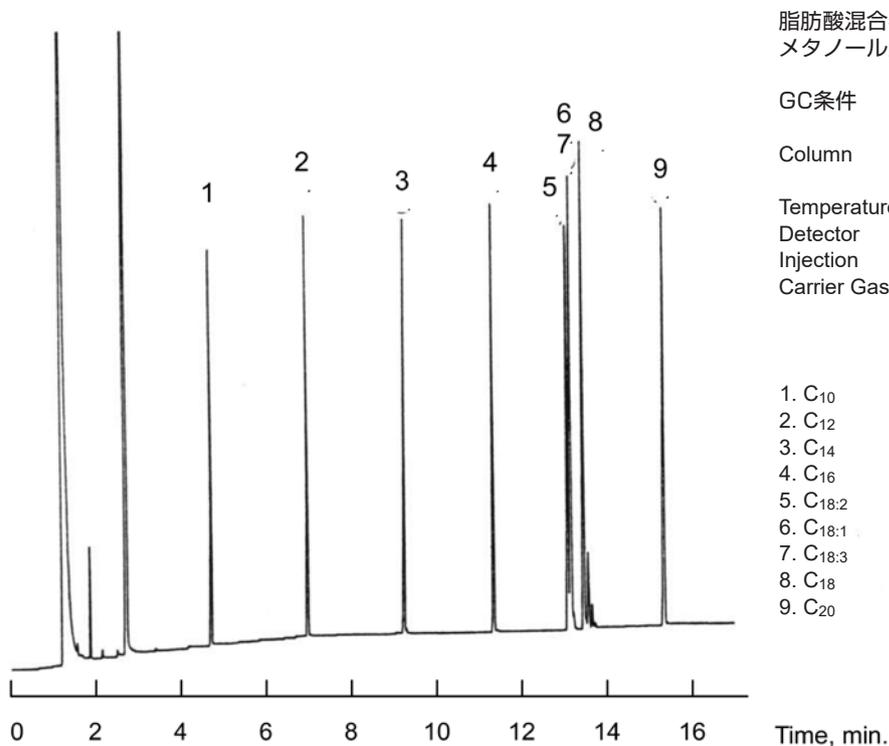
PTAH は “On-Column Methylation” に大変有効で、反応は定量的に速やかに進行します。また、安全性の点でも取扱いが簡単です。例えば Middleditch ら⁹⁾ は脂肪酸混合物 1 mg を室温で PTAH の 0.2 M メタノール溶液 0.5 mL に溶かし、その 1 mL をそのまま試料気化室に注入しメチルエステル体の分離に好結果を得ています。この場合の反応過程は、室温で生成した酸のフェニルトリメチルアンモニウム塩が、気化室中での熱分解により、エステルと副生物としてジメチルアニリンを生成するものと推測されています。

TMAH の使用例としては Robb ら⁴⁾ によるカルボン酸のエステル化や、プリン、ピリミジン塩基のメチル化への応用例⁵⁾ があります。

バルビツール酸類のメチル化

Martin ら³⁾ はバルビツール酸類のメチル化体を GC に注入したところ、フリーの酸そのままを注入²⁾ したときよりも分離度が良くシャープなピークを得ています。しかしメチル化操作に手間を要するのが欠点でした。Stevenson¹⁾ は TMAH による “On-Column Methylation” をバルビツール酸類の分析に応用しています。即ちバルビツール酸類それぞれ 1 mg に TMAH の 0.1 M メタノール溶液 1 mL を加えて、その一部を GC に注入しています。そして試料と試薬のモル比 1 : 4 で反応は定量的に進むことを明らかにしています。

PTAH もバルビツール酸類⁶⁻⁸⁾ および鎮静剤^{6,8)}、キサンチン塩基⁷⁾、フェノールアルカロイド⁷⁾、ジフェニルヒダントインナトリウム⁸⁾ などの “On-Column Methylation” 試薬として使われ GC 分析に好結果を与えています。



脂肪酸混合物のPTAHによるオンカラムメチルエステル化クロマトグラム

脂肪酸混合物 1 mgに、0.2 MのPTAH
メタノール溶液 500 μ Lを加えGCに注入します。

GC条件

Column : 007-1,
25 m \times 0.25 mm I. D. \times 0.25 μ m
Temperature : 100 - (10 $^{\circ}$ C/min) - 240 $^{\circ}$ C
Detector : FID: $2^3 \times 2^5$
Injection : 300 $^{\circ}$ C
Carrier Gas : He: 0.9 kg/cm², 30 cm/s

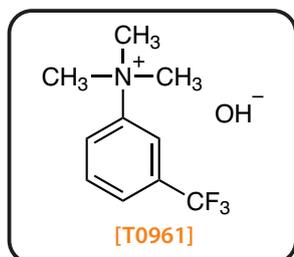
1. C₁₀
2. C₁₂
3. C₁₄
4. C₁₆
5. C_{18:2}
6. C_{18:1}
7. C_{18:3}
8. C₁₈
9. C₂₀

【文献】

- 1) G. W. Stevenson, *Anal. Chem.* **1966**, 38, 1948.
- 2) A. B. Svendsen, *J. Pharm. Sci.* **1962**, 51, 318.
- 3) H. F. Martin, J. L. Driscoll, *Anal. Chem.* **1966**, 38, 345.
- 4) E. W. Robb, J. J. Westbrook, *Anal. Chem.* **1963**, 35, 1644.
- 5) J. MacGee, *Anal. Biochem.* **1966**, 14, 305.
- 6) *Chemical&Engineering News* **1971**, April 12, p.13.
- 7) Oke. Brochmann-Hanssen, *J. Pharm. Sci.* **1969**, 58, 370.
- 8) M. J. Barrett, *The Clinical Chemistry Newsletter* p.3, No.1, Spring (1971). (published by the Perkin-Elmer Corp.)
- 9) B. S. Middleditch, D. M. Desiderio, *Anal. Lett.* **1972**, 5, 605.

3-(Trifluoromethyl)phenyltrimethylammonium Hydroxide (=m-TFPTAH) (5% in Methanol)

25 mL / 100 mL [T0961]



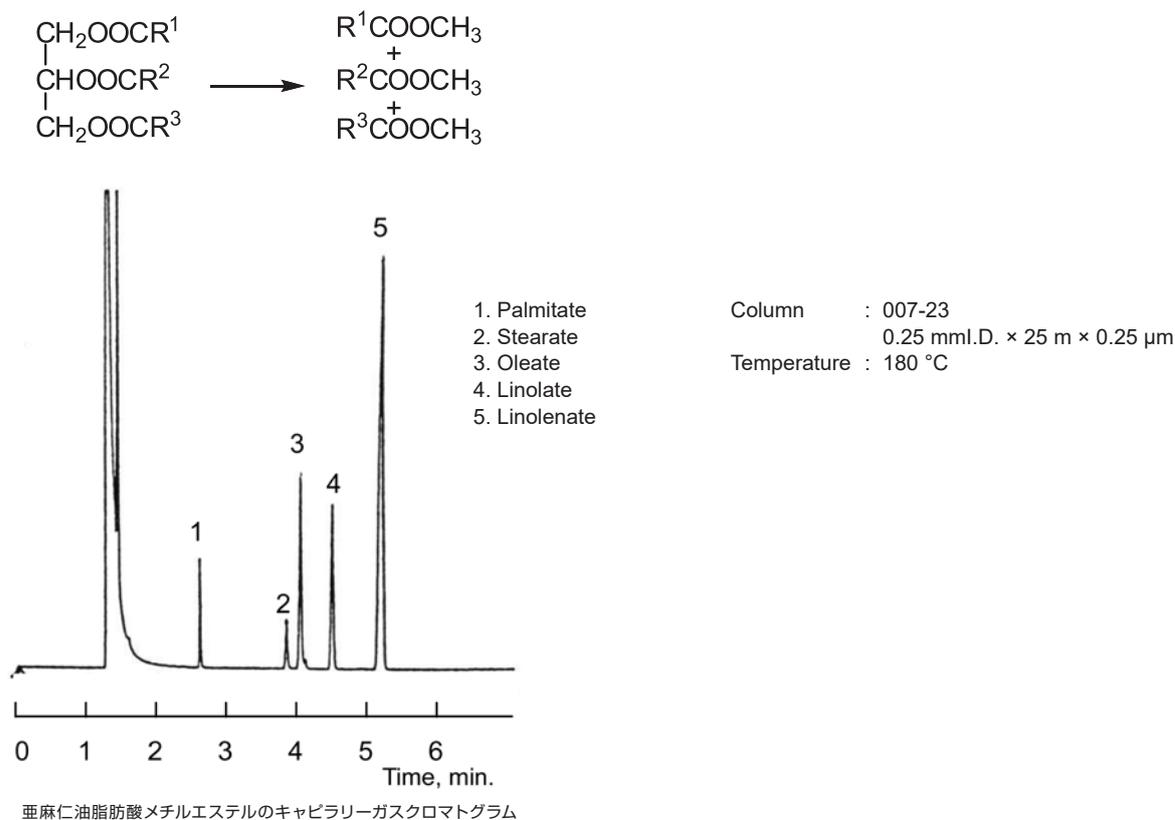
3-(トリフルオロメチル)フェニルトリメチルアンモニウムヒドロキシドはトリグリセリドなどのエステル交換剤で、構成脂肪酸をメチルエステルとして GC 分析することができます。本品をトリグリセリドと混合し、混合液を GC に注入することで、定量的に構成脂肪酸のメチルエステル化体のクロマトグラムが得られます。

ナトリウムメトキシドを用いる従来のトリグリセリド構成脂肪酸のメチルエステル化に比べ、極めて簡便な操作で構成脂肪酸の GC 分析が行えます。脂肪酸中に存在する二重結合に影響を与えることなくメチルエステル化体が得られ、利用しやすいメチルエステル化剤です。また、脂肪酸のオンカラムメチル化剤としても使用できます^{1,2)}。以下に実験例を示します (試料：亜麻仁油)。

【使用例】

亜麻仁油の交換エステル化

亜麻仁油 10 mg をバイアルにとり、トルエン 0.5 mL で溶解後、5% の 3-(トリフルオロメチル)フェニルトリメチルアンモニウムヒドロキシド (メタノール溶液) 200 μ L を加え、密栓し室温下で 15 分間放置します。反応液 1 μ L をそのまま GC に注入します。



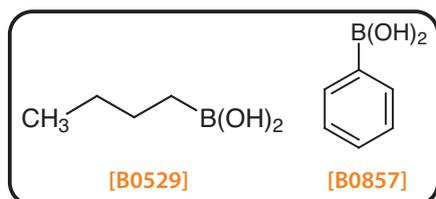
【文献】

- 1) W. C. Kossa *et al.*, *J. Chromatogr. Sci.* **1979**, 17, 177.
- 2) J. MacGee, K. G. Allen, *J. Chromatogr.* **1974**, 100, 35.

環状ボロナートエステル化剤

Butylboronic Acid (contains varying amounts of Anhydride)
Phenylboronic Acid (contains varying amounts of Anhydride)

1 g / 5 g / 25 g [B0529]
 5 g / 25 g / 250 g [B0857]

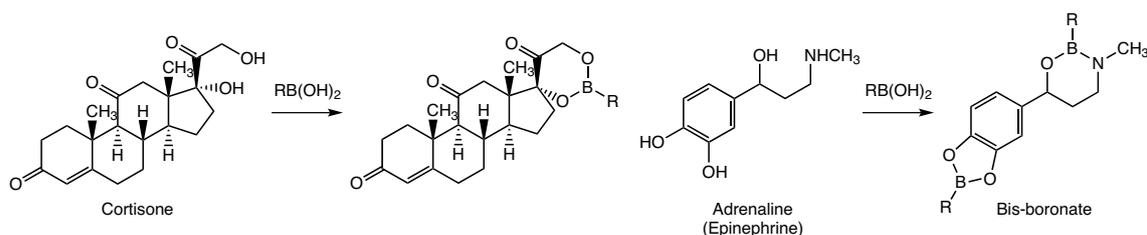


室温～若干の加温で容易にジオール、オキシ酸、オキシアミンと反応して環状のボロナートを生成します。酒石酸、乳酸、サリチル酸等のオキシ酸、カテコールアミン、コルチコステロイド、プラシノライドの GC、GC-MS 分析に利用されています。

【使用例】

コルチコステロイド^{1,2)}

ステロイド 10 μmol、ブチルボロン酸 10 μmol を酢酸エチル 1 mL に溶かし、室温で 5 分間反応させます。

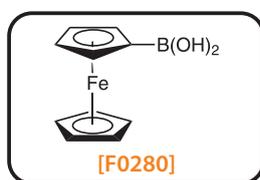


【文献】

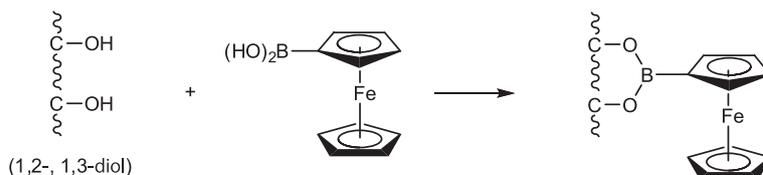
- 1) C. J. W. Brooks, *et al.*, *J. Chromatogr.* **1971**, 54, 193.
- 2) C. J. W. Brooks, *et al.*, *J. Chromatogr. Sci.* **1971**, 9, 18.

Ferroceneboronic Acid (contains varying amounts of Anhydride)

100 mg / 1 g [F0280]



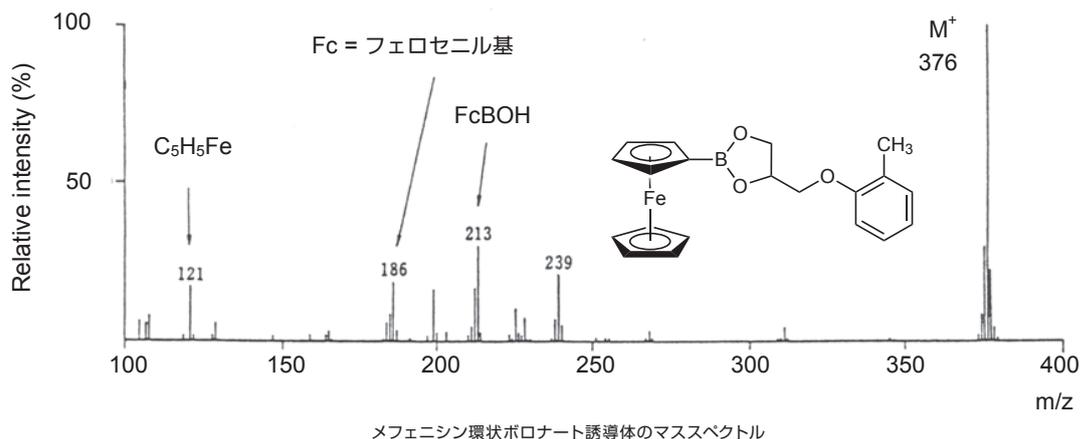
アルキルボロン酸は二官能性化合物と反応して環状ボロナートを生成し、GC分析やGC-MS分析に利用されています。フェロセンボロン酸は、特にGC-MS分析の際の有用な誘導体化試薬です。



Brooksらによれば、本品と二官能性化合物との生成物である環状ボロナート誘導体は電子衝撃(EI)式MSにおいて特徴あるスペクトルを与えると報告しています(その一例を図に示します)。誘導体は強い分子イオンピークと同位体原子¹⁰B、⁵⁴Fe、⁵⁷Feに起因する同位体ピークを生じます。そのため二官能性化合物の同定に有利です。さらに、主なフラグメントイオンは試料分子からでなく、試薬分子より派生するものがほとんどです(図では m/z 239、213、186、121)。従って、SIMによるマスククロマトグラフィーに最適です。

【一般的な環状ボロナート誘導体化法】

試料 100 μ Lを乾燥ピリジンに溶解させます。フェロセンボロン酸 1.1倍モルを乾燥ピリジンに溶解させ試料溶液に加えます。30分間70 $^{\circ}$ Cに保ち、その後に窒素ガスを導入しながらピリジンを除去します。酢酸エチル 100 μ Lに溶解させGCあるいはGC-MS用試料とします。



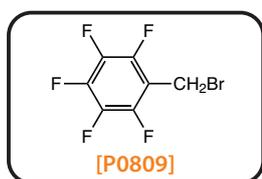
【文献】

C. J. W. Brooks, W. J. Cole, *J. Chromatogr.* **1986**, 362, 113

ペンタフルオロベンジルエステル化剤 [GC-ECD用]

Pentafluorobenzyl Bromide

1 g / 5 g / 25 g [P0809]



【適用】

カルボン酸、フェノール¹⁾、スルホンアミド²⁾、メルカプタン

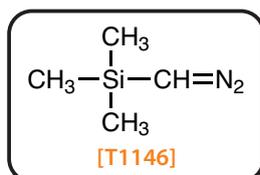
【文献】

- 1) H. Ehrsson, *Acta Pharmaceutica Suecica* **1971**, 8, 113.
- 2) O. Gylledhaal, H. Ehrsson, *J. Chromatog.* **1975**, 107, 327.
- 3) F. K. Kawahara, *Anal. Chem.* **1968**, 40 (6), 1009.
- 4) F. K. Kawahara, *Anal. Chem.* **1968**, 40 (13), 2073.
- 5) F. K. Kawahara, *Environ Sci. & Tech.* **1971**, 5 (3), 235.
- 6) F. K. Kawahara, *Environ Sci. & Tech.* **1976**, 10 (8), 761.

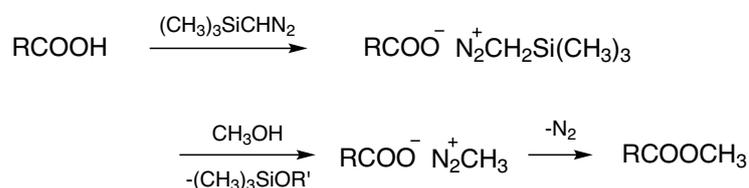
安全なメチルエステル化剤 (TMS-ジアゾメタン)

Trimethylsilyldiazomethane (=TMS-Diazomethane) (ca. 10% in Hexane, ca. 0.6 mol/L)

10 mL / 25 mL / 100 mL [T1146]

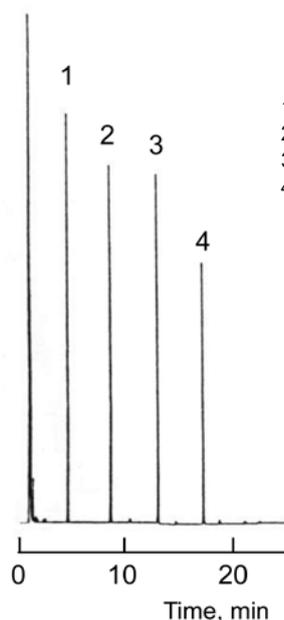


一般的なメチルエステル化剤として古くからジアゾメタンが使用されていますが、ジアゾメタンは毒性（発がん性など）が強く、爆発性もあり、さらに用時調製を要する等の不都合な点を有しています。本品は比較的取扱いが容易で、メタノールの存在下で迅速かつ定量的に種々のカルボン酸からそのメチルエステル化体を生成します。



[使用例]

脂肪酸 (0.1 mmol) をメタノール20%を含むベンゼン 1 mLに溶かし、本品 0.5 mLを加えよく混ぜます。室温に30分間放置し、GC試料とします。



1. Lauric Acid
2. Myristic Acid
3. Palmitic Acid
4. Stearic Acid

GC条件

Column : 007-5
25 m × 0.25 mm I. D. × 0.25 μm
Temperature : 150 °C - (5 °C / min) - 250 °C
Carrier Gas : He 30 cm/s

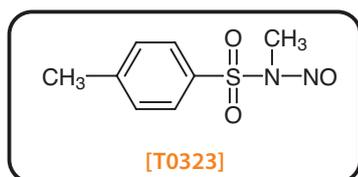
[文献]

N. Hashimoto, T. Aoyama, T. Shioiri, *Chem. Pharm. Bull.* **1981**, 29, 1475.

ジアゾメタン調製用試薬

p-Toluenesulfonyl-*N*-methyl-*N*-nitrosamide (= *p*-Tolylsulfonylmethylnitrosamide)

25 g / 500 g [T0323]

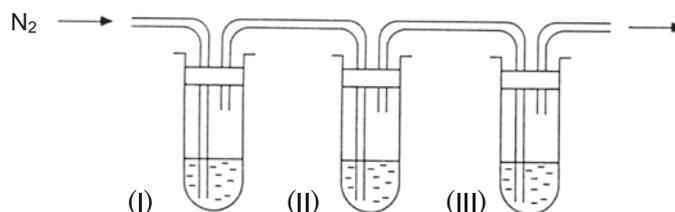


ジアゾメタンは最も一般的なメチルエステル化剤として、古くから知られています。

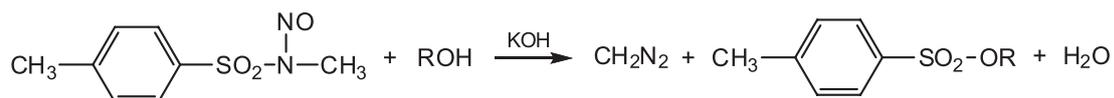
エステル化反応



GC試料のエステル化用には、そのための器具も販売されていますが、小型の試験管を用いる下図のような装置が簡単です。



反応式: Diazomethaneの発生



【操作法】

(I)にはエーテル 約10 mL、(II)にはカルピトール* 約10 mL、水酸化カリウム 5~6粒を水 1~2 mLに溶かしたものを入れます。(III)には脂肪酸のエーテル溶液を入れておき窒素ガスを少量流しておきます。(II)に*p*-トルエンсульホニル-*N*-メチル-*N*-ニトロソアミドの (MW≒214.24)エーテル溶液を脂肪酸の約5倍当量加えるとジアゾメタンが発生し、窒素ガスで(III)に送られエステル化が行われます。(III)の液が微黄色に着色したらエステル化は完了であり、そのままGCに注入すれば良いです。

* 文献ではエタノールが使用されていますが、低級脂肪酸を分析する場合(II)のエタノールが一部酸化し(III)に混入します。エタノールが試料のピークと重なることがあるのでカルピトールを使用した方が良いです。

【取扱い注意】

ジアゾメタンは、黄色の非常に有毒な爆発性のガス体です。従ってその取扱いにはドラフト中、または通気の良い場所で細心の注意を要します。製造の際、先端がとがっていたり、表面の粗いガラス面に接触させると爆発の恐れがあります。その為、通常のスリ合せジョイントは使用できません。

【文献】

実験化学講座9 ガスクロマトグラフィー p340 丸善 (1965).

医学のあゆみ 1964, 50 (5), 206.

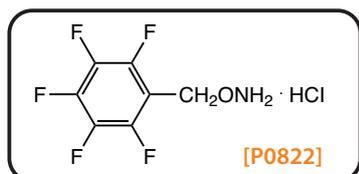
その他の前処理試薬

Other Pretreatment Reagents

ケトステロイドオキシム調製試薬

O-(2,3,4,5,6-Pentafluorobenzyl)hydroxylamine Hydrochloride (=O-PFBHA·HCl)

1 g / 5 g [P0822]



O-(2,3,4,5,6-ペンタフルオロベンジル)ヒドロキシアミン塩酸塩(O-PFBHA·HCl)はテストステロン、プロゲステロンなどの極微量のケトステロイド類を電子捕獲型検出器(Electron Capture Detector: ECD)でGC分析する際に用いられるオキシム誘導試薬です^{1,2)}。

生体組織内のステロイド分析用としてECDを用いたGC分析が広く行われています。しかし、本来ステロイド類には、電子捕獲性を持つものは非常に少なく、このため検出感度を増加させるため種々の電子捕獲基誘導試薬が研究開発されています。この為のエステル化剤として

よく使われているペルフルオロカルボン酸クロリドあるいは酸無水物³⁾は、反応系中に強酸を副生し、その酸もステロイドと反応してしまいます。また、しばしば1つのステロイドから幾つもの異性誘導体を生成するため、複数のピークを生じ分析上の誤認を招く恐れがあるなどといわれています。また、ペンタフルオロフェニルヒドラジン^{4,5)}は、ステロイドとの縮合物の熱安定性が満足すべきものではないというような欠点をもっています。

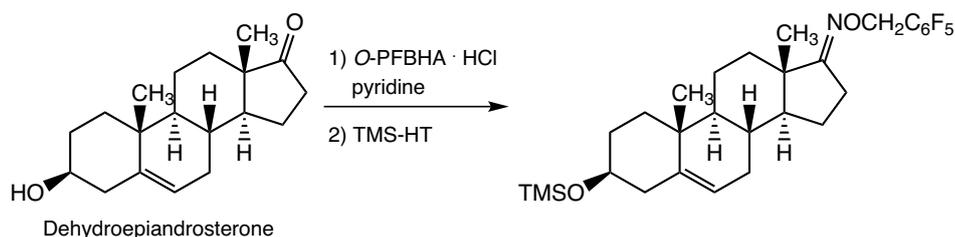
O-PFBHA·HClは上記のような欠点を解決したケトステロイド用誘導試薬で、緩和な条件下で極微量(1~5 ng)のケトステロイドと反応し、ほとんど副生成物を生じることなくペンタフルオロベンジルオキシム(O-PFBO)誘導体を生成します。このオキシムは高い熱安定性を示し、かつECDに対して超高感度で、その感度はテストステロンの場合5 pg (5×10^{-12} g)であり、他のステロイドについても1 ng~0.1 ngレベルです。

過剰の試薬は酸で洗浄することで簡単に除去できます。また、ステロイド中の未反応の水酸基はTMS化することでガスクロマトグラフィが容易になります。

人の血漿より抽出したデヒドロエピアンドロステロンの分析例を紹介します。

[使用例]¹⁾

内部標準として酢酸エピアンドロステロン(約1 µg)を含んだ血漿の抽出物をピリジン2滴に溶解し、これにO-PFBHA·HCl 0.2 mgを加え、60 °Cで1時間反応させます。次にヘキサン 3 mLで希釈した後、水 1 mL、0.1 Nの塩酸 1 mL、0.1 Nの水酸化ナトリウム水溶液 1 mL、水 1 mLで連続的に洗浄し遠心分離を行った後、ヘキサンを蒸発させ残留物(O-PFBO体)を得ます。次にTMS-HTで水酸基をTMS化します。蒸発乾固後、得られた残留物をヘキサン 1 mLに溶かし、2 µLをGCに注入します。



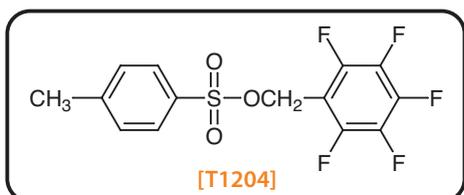
[文献]

- 1) T. Nambara, K. Kigasawa, T. Iwata, M. Ibuki, *J. Chromatogr.* **1975**, 114, 81.
- 2) K. T. Koshy *et al.*, *J. Chromatogr. Sci.* **1975**, 13, 97.
- 3) P. G. Devaux, E. C. Horning, *Anal. Lett.* **1969**, 2, 637.
- 4) J. Attal *et al.*, *Anal. Biochem.* **1967**, 20, 394.
- 5) R. A. Mead *et al.*, *J. Chromatogr. Sci.* **1969**, 7, 554.

無機陰イオンのGC前処理試薬

Pentafluorobenzyl *p*-Toluenesulfonate (=PFB-Tosylate)

5 g [T1204]



無機陰イオン(Br⁻、I⁻、CN⁻、S₂⁻、NO₂⁻、NO₃⁻、SCN⁻)の分析には、本品を使用してペンタフルオロベンジル化することによりGC分析ができます。検出器にECDを使用することで微量無機陰イオンの高感度分析も可能です。なお、カルボン酸、フェノール等のPFB化GC分析にも使用できます。

【使用例】

試料 1 mL、0.1 Mのテトラアミルアンモニウムクロリド(TAAC)水溶液 0.2 mLおよび本品の0.1 Mの塩化メチレン溶液 1 mLをスクリーキャップ付き褐色ビン (約10 mL) に入れ密栓し、30分間攪拌後に下層をGCへ注入します。

【測定範囲】

| 対象無機イオン | 誘導体 | 測定範囲(FID) |
|-------------|-----------------|--------------|
| Bromide | PFB-Bromide | 30 - 300 ppm |
| Cyanide | PFB-Cyanide | 10 - 100 ppm |
| Iodide | PFB-Iodide | 50 - 500 ppm |
| Nitrite | PFB-Nitrite | 45 - 450 ppm |
| Nitrate | PFB-Nitrate | 25 - 250 ppm |
| Sulfide | PFB-Sulfide | 6.5 - 65 ppm |
| Thiocyanate | PFB-Thiocyanate | 20 - 200 ppm |

【文献】

K. Funazo, *et al.*, *J. Chromatogr.* **1985**, 346, 215.

K. Funazo, 日本分析化学会第34年会講演要旨集 奨励賞講演 p11 (1985).

東京化成工業株式会社

試薬製品について

■本社営業部 〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町 16-12 T-PLUS 日本橋小伝馬町8階
Tel: 03-3668-0489 Fax: 03-3668-0520 E-mail: Sales-JP@TCIchemicals.com

■大阪営業部 〒541-0041 大阪府大阪市中央区北浜1-1-21 第2中井ビル1階
Tel: 06-6228-1155 Fax: 06-6228-1158 E-mail: osaka-s@TCIchemicals.com

スケールアップ、受託サービス(合成・開発・製造)について

□化成品営業部 〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町 16-12 T-PLUS 日本橋小伝馬町8階
Tel: 03-5651-5171 Fax: 03-5640-8021 E-mail: finechemicals@TCIchemicals.com

弊社製品取扱店

本誌掲載の化学品は試験・研究用にのみ使用するものです。化学知識のある専門家以外の方のご使用はお避けください。品目や製品情報等、掲載内容の変更を予告なく行う場合があります。内容の一部または全部の無断転載・複製はご遠慮ください。