

УДК 577.112.34:543.544.3

СИСТЕМАТИЗАЦИЯ ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ТРИМЕТИЛСИЛИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ

© 2024 г. И. Г. Зенкевич^а, *

^аСанкт-Петербургский государственный университет, Институт химии,
Университетский просп., 26, Санкт-Петербург 198504, Россия

*E-mail: izenkevich@yandex.ru

Поступила в редакцию 30.08.2023 г.

После доработки 09.09.2023 г.

Принята к публикации 13.09.2023 г.

Систематизированы значения газохроматографических индексов удерживания (RI) триметилсилильных производных (ТМС) простейших аминокислот на стандартных неполярных полидиметилсилоксановых неподвижных фазах. Такая обработка данных включает их объединение для производных одних и тех же аминокислот в зависимости от числа ТМС-групп (от одной до четырех) и вычисление средних значений RI вместе с их стандартными отклонениями, по данным различных источников информации. Эта форма представления результатов позволяет выявлять наиболее подробно охарактеризованные производные, а также оценить надежность известных для них индексов удерживания. На основании даже ограниченных данных для наиболее распространенных аминокислот сформирована простейшая аддитивная схема вычисления индексов удерживания для оценки их неизвестных значений, контроля ранее определенных величин и выявления ошибочных данных. Значение инкремента $DRI = RI(бис) - RI(моно)$ для преобразования $-CO_2Si(CH_3)_3 + -NH_2 \rightarrow -CO_2Si(CH_3)_3 + -NHSi(CH_3)_3$ хорошо воспроизводимо (118 ± 9). Значения другого инкремента $DRI = RI(трис) - RI(бис)$ различны для трансформаций $-NHSi(CH_3)_3 + XH \rightarrow -N[Si(CH_3)_3]_2 + XH$ (238 ± 35) и $-NHSi(CH_3)_3 + XH \rightarrow -NHSi(CH_3)_3 + -XSi(CH_3)_3$ (111 ± 16). Предложен способ контроля корректности полученных значений DRI.

Ключевые слова: Триметилсилильные производные аминокислот, систематизация индексов удерживания, аддитивная схема оценки индексов.

DOI: 10.31857/S0044450224080077, EDN: TNNZLJ

С момента появления инструментальных хроматографических методов разделения аминокислоты (АК) остаются одним из важнейших объектов анализа. Им посвящено настолько большое число публикаций, что целесообразно указать лишь некоторые из них [1–3]. Это обусловлено как значением таких аналитов в биохимии [4], так и особенностями подготовки проб. Для определения аминокислот в составе белков необходимой стадией является предварительный гидролиз полипептидов. Поскольку свободные аминокислоты в нейтральных средах представляют собой цвиттер-ионы ($H_3N^+ - CHR - CO_2^-$), то как в газовой, так и в высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)

требуется получение их производных для хроматографического разделения (derivatization), желательно по всем входящим в состав молекул амина-, карбоксильным и иным группам [5–8].

Число различных реагентов, предложенных для derivatization АК с целью их газохроматографического разделения, по-видимому, превышает их число для соединений других классов [2, 4–6]. Более того, как отмечено в “Энциклопедии хроматографии” [5, 6], их количество постоянно увеличивается. Опять-таки, не претендуя на полноту цитирования, в качестве одного из последних примеров можно привести такую рекомендацию, как селективное N-силилирование эфиров аминокислот триметилхлорсиланом

в присутствии цинковой пыли [9]. Представляет интерес одновременное образование алкиловых эфиров по карбоксильным и N-диметиламинометиленовых производных по аминогруппам в результате реакции аминокислот с диалкилацетальми диметилформамида [10]. Заслуживает внимание получение триметилсилильных эфиров АК по группам $-\text{OH}$ и $-\text{CO}_2\text{H}$ одновременно с образованием N-перфторацильных производных [11] в результате обработки гексаметилдисилазаном в смеси с перфторкарбоновыми кислотами, а также многие другие примеры. Каждый из способов дериватизации имеет свои особенности, но такой вариант, как получение триметилсилильных производных АК, широко применяют до настоящего времени. Рекомендуются для этих целей число реагентов превышает несколько десятков [4–6].

Преимуществом получения триметилсилильных (ТМС) производных является использование одного реагента и протекание реакции в одну стадию в гомогенных средах, причем при соответствующем выборе реагентов их избытки не мешают регистрации сигналов продуктов. Слабые сигналы молекулярных ионов, по крайней мере для производных с небольшим числом ТМС-групп, регистрируются достаточно уверенно [12]. Однако они обладают важной особенностью [5, 6], на которую обратили внимание достаточно давно [13, 14], но на практике учитывают не всегда. Дело в том, что карбоксильные группы в составе АК образуют ТМС-эфиры при действии практически любых силилирующих реагентов, что нельзя сказать про аминогруппы. В зависимости от активности реагента, типа матрицы, стабильности производных [15], условий реакции и хранения проб, а также других факторов, возможно образование как N-моно-, так и N,N-бис-ТМС-производных с группами $-\text{NHSi}(\text{CH}_3)_3$ и $-\text{N}[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]_2$. Это нарушает взаимно однозначное соответствие ($1 \longleftrightarrow 1$) числа исходных аналитов и продуктов их дериватизации [5], что может осложнить идентификацию АК в составе сложных образцов. Для моноаминомонокарбоновых кислот (даже для простейшей из них — глицина) степень неопределенности равна двум, но в случае диаминкарбоновых кислот и кислот, содержащих амидные фрагменты (лизин, аспарагин, глутамин), она значительно возрастает. Например, отмечено [5], что лизин, кроме моно-ТМС-эфира по группе $-\text{CO}_2\text{H}$, теоретически может образовывать восемь различных N-ТМС-производных.

Конечно же, не все они образуются с равной вероятностью, но это даже усложняет задачу их идентификации. Так, еще в 1970 г. было установлено [13], что основными ТМС-производными лизина оказываются *трис*- и *тетракис*-замещенные, которые можно различить просто по порядку их газохроматографического элюирования. Однако такая информация не устраняет полностью неопределенность результатов, так как для *трис*-ТМС-производных лизина существует три структурных изомера, а для *тетракис*- — два. Такие изомеры неразличимы по масс-спектрам, в отличие от производных с разным числом ТМС-фрагментов [12, 16].

Следовательно, при представлении результатов хромато-масс-спектрометрической идентификации АК в виде ТМС-производных необходимо учитывать следующие особенности таких аналитов:

1. Поскольку молекулярные массы ТМС-производных АК определить удастся не всегда, то достаточно часто встречается форма записи “название аминокислоты — ТМС”. Это соответствует уровню так называемой групповой идентификации (подразумевает указание только химической природы аналита), так как соответствует неопределенному числу ТМС-фрагментов в молекуле, либо присутствию в молекуле их максимально возможного числа. Из многочисленных примеров такой формы записи результатов можно указать работы [17, 18].

2. Следующий “уровень” уточнения результатов газохроматографической идентификации ТМС-производных АК предполагает не установление числа ТМС-групп в молекулах, а указание последовательности элюирования различных ТМС-производных одних и тех же АК в форме “ТМС № 1”, “ТМС № 2” и т.д. Например, в публикации [19] находим “2-methylaspartic acid TMS № 1” и “2-methylaspartic acid TMS № 2”, причем их индексы удерживания (RI) равны 1556 и 1392 соответственно, т.е. не соответствуют увеличению их номеров. Для ТМС-производных валина № 1 и 2 значения RI указаны в правильной последовательности (1083 и 1239), но компоненту № 1 корректно приписана структура моно-ТМС эфира, а компоненту № 2 — ошибочная структура O,N,N-*трис*-ТМС-производного, которое не охарактеризовано до настоящего времени. Для двух ТМС-производных глутаминовой кислоты определены правильные значения RI (1528 и 1627), но для обоих соединений указана одна и та же структура

трис-ТМС производного. Перечисление подобных многочисленных несообразностей не следует воспринимать только как критику [20]; это, скорее, иллюстрация объективных сложностей идентификации ТМС-производных соединений с несколькими активными атомами водорода в составе разных функциональных групп.

3. Одновременное присутствие среди продуктов дериватизации АК *N-моно*- и *N,N-бис*-ТМС-производных АК обусловлено не прочностью связи N–Si (аддитивная оценка ее энергии в схеме Бенсона 355 кДж/моль превышает аналогичную оценку энергии связи C–C – 346 кДж/моль [21]), а легкостью гидролиза N-ТМС-производных следами воды. Следовательно, N-ТМС-производные (особенно *N,N-бис*-ТМС) отличаются, как правило, плохой сохранностью в пробах. Нестабильность ТМС-производных АК объясняет низкую воспроизводимость результатов их количественного определения. По классификации, предложенной в работе [15], часть АК (очень нестабильные) характеризуется относительными стандартными отклонениями площадей пиков на уровне 70–170% (!), тогда как умеренно нестабильные остальные – на уровне 15–50%. Иными словами, для количественных определений лучше выбирать не ТМС-, а другие производные аминокислот.

4. По указанным причинам при обнаружении в оригинальных работах примеров неконкретного представления данных о ТМС-производных АК при создании базы NIST [12], в которой каждому соединению соответствует структурная формула, в окончательную версию базы они попадали только в тех случаях, если по значениям RI их удавалось соотнести с конкретными структурами.

5. Таким образом, условие однозначности результатов индивидуальной идентификации ТМС-производных АК предполагает исключение ответов с неопределенным числом ТМС-групп. Известны многочисленные примеры использования именно такой формы представления данных [22–24]. Однако часто это сопровождается искусственными ограничениями числа структур в подобных перечнях. Примером такого подхода (одна структура некоторого ТМС-производного для каждой аминокислоты) является руководство [18], причем его труднодоступность для Российских читателей делает невозможным контроль приведенной в нем информации. Следовательно, если в образцах обнаруживаются другие ТМС-производные

аминокислот, не представленные в списках их производных, то это неизбежно приводит к отрицательным результатам идентификации.

Из перечисленного следует:

– хромато-масс-спектрометрическая идентификация ТМС-производных аминокислот без привлечения данных по индексам удерживания нерациональна, хотя известны примеры использования только массовых чисел характеристических ионов в масс-спектрах при определении ограниченного числа аминокислот [24];

– для эффективного использования информации по индексам удерживания необходима систематизация известных значений RI не только чаще всего определяемых ТМС-производных АК, но и всех теоретически возможных продуктов их дериватизации.

Настоящая работа посвящена систематизации индексов удерживания ТМС-производных аминокислот на стандартных неполярных полидиметилсилоксановых неподвижных фазах и рассмотрению возможностей их оценки и контроля с использованием простейшей аддитивной схемы. Систематизация включает группирование индексов удерживания для производных, содержащих разное число ТМС-групп в молекуле, и их последующую статистическую обработку.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ. ВЫБОР ИСХОДНЫХ ДАННЫХ И ИХ ОБРАБОТКА

Значения RI ТМС-производных аминокислот на стандартных неполярных полидиметилсилоксановых неподвижных фазах заимствованы из всех доступных литературных источников, включая [17, 22, 23, 25] (цитированы в настоящей работе), а с сайта <http://webbook.nist.gov> (часть данных базы [12]). При отсутствии данных для указанных фаз дополнительно привлекали значения на так называемых *semi-standard* фазах (содержат 5% фенильных групп).

Стандартная статистическая обработка данных включала вычисление средних арифметических значений и соответствующих стандартных отклонений (в каждом случае указано число измерений, *N*). В интервалы $\langle RI \rangle \pm s_{RI}$ попадает в среднем 68% значений исходных выборок. Такая форма представления данных не эквивалентна статистической обработке в базе [12], в которой средние значения RI характеризуют

медианами ($m_{1/2}$), а их разброс – медианами абсолютных отклонений (MAD) [26, 27]. Следовательно, в интервалы $m_{1/2} \pm \text{MAD}$ попадает около 50% значений выборок, а $\text{MAD}(\text{RI}) < s_{\text{RI}}$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты систематизации и статистической обработки индексов удерживания триметилсилильных производных 21 наиболее распространенных и, следовательно, наиболее подробно охарактеризованных аминокислот на стандартных неполярных полидиметилсилоксановых неподвижных фазах приведены в табл. 1.

Для каждой аминокислоты указаны ее молекулярное массовое число, трехбуквенное обозначение, перечислены группы с активными атомами водорода в молекуле и общее число активных атомов водорода (n_{H}). Например, для Ser такая запись имеет вид “ $(\text{CO}_2\text{H})(\text{NH}_2)(\text{OH}) - 4$ ”, Asp и Glu – “ $(\text{CO}_2\text{H})(\text{NH}_2)(\text{CONH}_2) - 5$ ”, а для аспарагиновой и глутаминовой кислот – “ $(\text{CO}_2\text{H})_2(\text{NH}_2) - 4$ ”. Значение n_{H} позволяет представить себе теоретически возможное число ТМС-производных для каждой АК. Однако в действительности такое соответствие достигается только при небольших значениях n_{H} . Например, образование *трис*-ТМС-производных моноаминокарбоновых кислот отмечено только для Gly, Ala, Ile, Met, OH-Pro, Phe ($n_{\text{H}} = 3$). *Бис*-ТМС-производное зафиксировано для Pro ($n_{\text{H}} = 2$), а *тетракис*- – для Cys ($n_{\text{H}} = 4$). Во всех остальных случаях полное замещение всех активных атомов водорода триметилсилильными фрагментами не всегда реализуется и поэтому для чаще всего обнаруживаемых производных $n(\text{TMS}) < n_{\text{H}}$.

Особенности индексов удерживания триметилсилильных производных аминокислот. Значения RI в табл. 1 предусмотрены для производных от *моно*- до *тетракис*-ТМС потому что только четыре АК характеризуются значениями $n_{\text{H}} > 4$: Asn, Gln, Lys и Arg. Однако необходимости увеличивать число граф нет, так как для *пентакис*-ТМС производных Asp, Gln и Lys данные отсутствуют, а значения RI *пентакис*-ТМС производного аргинина (1632 и 1640), скорее всего, ошибочны, так как не отличаются от значения 1632 для *тетракис*-ТМС-производного (см. обсуждение ниже). Экспериментальное определение числа ТМС-групп в случаях $4 < n(\text{TMS}) \leq 7$ весьма сложно, так как в масс-спектрах таких поли-ТМС-производных

сигналы молекулярных ионов практически отсутствуют. В каждой графе перед значением RI в скобках приведены молекулярные массовые числа соответствующих производных.

Форма представления данных в табл. 1 достаточно компактна, но в то же время позволяет сделать важные выводы о характере образующихся продуктов силилирования. Жирным шрифтом в таблице выделены данные для чаще всего обнаруживаемых производных, так что даже беглый взгляд на таблицу позволяет сразу их выявить. Вывод о частоте обнаружения немедленно следует на основании числа усредняемых значений индексов (N). Образование *бис*-ТМС-производных наиболее типично для 12 АК: Gly, Ala, Pro, Val, Leu, Ile, Met, Phe, Tyr, Asp, Trh и Trp, *трис*-ТМС- – для 11: Gly, Ser, Cys, OH-Pro, Asn, Asp, Lys, Gln, Thr, Glu и His. Одновременным образованием *бис*- и *трис*-производных (частоты обнаружения приблизительно одинаковы) характеризуются Gly, Thr и Asp. *Тетракис*-ТМС-производные зафиксированы только для аспарагина и лизина ($n_{\text{H}} = 5$); для лизина такие производные относятся к главным продуктам, что было впервые отмечено еще в 1970 г. [13]. Обращает на себя внимание отсутствие преобладающих продуктов дериватизации аргинина, для которого имеются ограниченные сведения ($N = 1-2$) об RI *моно*-, *бис*-, *трис*- и *тетракис*-ТМС-производных. Сложности образования ТМС-производных аргинина обусловлены, по-видимому, его максимальной основностью среди всех аминокислот ($pK_{\text{a}} = 13.8 \pm 0.1$), $pI = 10.8$ [28]), что связано с наличием в молекуле гуанидинового фрагмента.

Для девяти АК известны значения RI *моно*-ТМС-производных. В семи случаях (Gly, Ala, Pro, Cys, Ile, Met и Arg) это единичные значения, определенные непосредственно в лабораториях NIST [12]. Их образование возможно только в специальных экспериментах без использования избытков силилирующих реагентов. Однако для двух АК *моно*-ТМС-производные относятся к числу часто обнаруживаемых: лейцин ($N = 16$) и фенилаланин ($N = 13$). Рационального объяснения причин такой селективности *моно*-силилирования для Leu и Phe пока нет.

Кроме частот обнаружения в качестве еще одного показателя сложностей или неоднородностей образования ТМС-производных АК можно выбрать отсутствие для них значений RI в базе NIST. Как отмечено выше, это определяется не отсутствием литературных данных,

Таблица 1. Индексы удерживания различных триметилсилильных производных некоторых аминокислот на стандартных неполярных полидиметил-силоксановых неподвижных фазах (жирным шрифтом выделены данные для чаще всего обнаруживаемых производных)

Аминокислота	Мол. масса (обозначение)	Группы с активными атомами водорода – общее число активных атомов водорода	(Мол. масса) индексы удерживания, $RI \pm s_{RI} (N)$, значение в базе NIST [12]			
			моно-	бис-	трис-	тетраakis-
Глицин	75 (Gly)	(CO ₂ H)(NH ₂) - 3	(147) 919 (1)	(219) 1118 ± 15 (11), 1105 ± 7 [12]	(291) 1316 ± 8 (24), 1317 ± 1 [12]	^a
Аланин	89 (Ala)	(CO ₂ H)(NH ₂) - 3	(161) 932 (1)	(233) 1106 ± 11 (26), 1110 ± 15 [12]	(305) 1367 ± 8, (2)	
Серин	105 (Ser)	(CO ₂ H)(NH ₂)(OH) - 4	(177) -	(249) 1256 ± 3 (3), 1252 (1) [12]	(321) 1376 ± 15 (25), 1368 ± 1 [12]	(393) -
Пролин	115 (Pro)	(CO ₂ H)(NH) - 2	(187) 1178 (1)	(259) 1302 ± 5 (3), 1302 ± 5 [12]	(333) -	
Валин	117 (Val)	(CO ₂ H)(NH ₂) - 3	(189) -	(261) 1228 ± 17 (22), 1229 ± 4 [12]	(335) 1397 ± 11 (20), 1402 ± 2 [12]	(407) -
Треонин	119 (Thr)	(CO ₂ H)(NH ₂)(OH) - 4	(191) -	(263) 1296 ± 9 (10)	(337) 1564 ± 9 (14), 1568 ± 6 [12]	(409) 1969 (1)
Цистеин	121 (Cys)	(CO ₂ H)(NH ₂)(SH) - 4	(193) 1225 (1)	(265) -	(347) -	
Лейцин	131 (Leu)	(CO ₂ H)(NH ₂) - 3	(203) 1168 ± 16 (2)	(275) 1283 ± 10 (37), 1279 ± 8 [12]	(347) 1328 (1)	
Изолейцин	131 (Ile)	(CO ₂ H)(NH ₂) - 3	(203) 1178 ± 1 (2)	(275) 1305 ± 14 (39), 1301 ± 4 [12]	(347) 1537 ± 17 (7)	
Гидроксипролин	131 (OH-Pro)	(CO ₂ H)(NH)(OH) - 3	(203) -	(275) -		(420) 1673 ± 10 (4) ^r 1863 (1)
Аспарагин ^b	132 (Asp)	(CO ₂ H)(NH ₂)(CONH ₂) - 5	(204) -	(276) ^b	(348) 1681 ± 10 (5)	
Аспарагиновая кислота	133 (Asp)	(CO ₂ H) ₂ (NH ₂) - 4	(205) -	(277) 1423 ± 19 (3)	(349) 1518 ± 26 (6), 1544 ± 13 [12]	(421) 1541 (1) ^d

Окончание табл. 1

Аминокислота	Мол. масса (обозначение)	Группы с активными атомами водорода – общее число активных атомов водорода	(Мол. масса) индекс удерживания, RI ± s _{RI} (N), значение в базе NIST [12]		
			моно-	бис-	трис-тетраakis-
Глутамин ^б	146 (Gln)	(CO ₂ H)(NH ₂)(CONH ₂) - 5	(218) -	(290) 1640 (1)	(362) 1770 ± 4 (5) (434) 1996 (1)
Лизин ^б	146 (Lys)	(CO ₂ H)(NH ₂) ₂ - 5	(218) -	(290) -	(362) 1708 ± 18 (4) (362) 1847 ± 3 (2), ^е 1718 (1) [12] (434) 1934 ± 17 (21)
Глутаминовая кислота	147 (Glu)	(CO ₂ H) ₂ (NH ₂) - 4	(219) -	(291) 1539 ± 17 (2), 1527 (1) [12]	(363) 1634 ± 12 (13), 1632 ± 3 [12] (435) 1770 ± 5 (5)
Метионин	149 (Met)	(CO ₂ H)(NH ₂) - 3	(221) 1416 (1)	(293) 1522 ± 11 (14), 1523 ± 5 [12]	(265) 1793 (1)
Гистидин	155 (His)	(CO ₂ H)(NH ₂)(NH) - 4	(227) -	(299) 1800 (1)	(371) 1924 ± 14 (10), 1917 ± 3 [12] (443) -
Фенилаланин	165 (Phe)	(CO ₂ H)(NH ₂) - 3	(237) 1556 ± 8 (13)	(309) 1630 ± 9 (23), 1625 ± 1 [12]	(381) 1769 (1)
Аргинин	174 (Arg)	(CO ₂ H)(NH ₂)(NH ₂)(NH) ₂ - 7	(246) 1386 (1)	(318) 1590 (1)	(390) 1814 ± 1 (2) (462) 1632* (1)
<i>пентаkis-</i> (534) 1636 ± 6 (2), <i>гексаkis-</i> (606), <i>гептаkis-</i> (678)					
Тирозин	181 (Tyr)	(CO ₂ H)(NH ₂)(OH) - 4	(253) -	(325) 1893 (1) 1892 ± 9 [12]	(397) 1950 ± 11 (16), 1952 ± 2 [12] (469) -
Триптофан	204 (Trp)	(CO ₂ H)(NH ₂)(NH) - 4	(276) -	(348) 2210 ± 6 (3)	(420) 2215 ± 4 (2), 2213 ± 5 [12] (492) -

^аПустая графа соответствует невозможности образования производных, прочерк означает, что их существование возможно, но они не обнаружены и, следовательно, не охарактеризованы; ^бдля *пентаkis*-TMC аспаргина и лизина данных нет; ^вдля *бис*-TMC аспаргина известны два значения RI (1543 и 1589), неудовлетворительно согласующиеся друг с другом; ^гдля *тетраakis*-TMC-аспаргина несколько известных значений RI соответствуют средней величине 1673 ± 10, что соответствует RI *трис*-TMC-производного. Только одно значение 1863 может быть приписано *тетраakis*-TMC-производному; ^дединственное известное значение RI *тетраakis*-TMC аспаргиновой кислоты (1541) в пределах погрешности не отличается от значения RI *трис*-TMC-производного (1518 ± 26) и, скорее всего, ошибочно; ^едля *трис*-TMC лизина известны не совпадающие друг с другом значения RI: 1708 (регистрируется чаще других) и 1847; *два известных значения RI *пентаkis*-TMC аргинина (1632 и 1640, за пределами таблицы) не отличаются от значения RI *тетраakis*-TMC-производного (1632) и, скорее всего, ошибочны, как и величина RI = 1632, которая меньше значения для *трис*-TMC-производного (1814).

а невозможностью их однозначного соотнесения с конкретными структурами. Так, в базе NIST17 [12] нет сведений о RI любых ТМС-производных OH-Pro, Asn, Asp, Gln, Glu, Arg и Trp. Однако масс-спектры некоторых из них в базе представлены; в таких случаях вместо отсутствующих экспериментальных значений RI приведены их оценки по аддитивной схеме [29].

Комментарии к аддитивности индексов удерживания ТМС-производных аминокислот. Возможности формирования аддитивной схемы их оценок. Как правило, увеличение числа ТМС-фрагментов в молекулах закономерно приводит к увеличению индексов удерживания. Следовательно, представляет интерес возможность создания некоторой аддитивной схемы, которая была бы полезной как для оценки еще неизвестных значений RI, так и для проверки правильности уже существующих данных. Однако решение этой задачи затрудняет как присутствие в молекулах аминокислот дополнительных групп ($-\text{OH}$, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{SH}$, $-\text{CONH}_2$), так и проявление стерических эффектов, которые в случае аминокислот могут быть достаточно неожиданными [30].

Здесь некоторых комментариев заслуживает вопрос: почему для оценки RI ТМС-производных аминокислот целесообразно выбрать именно простейшую аддитивную схему. По современным представлениям наибольшую точность оценок RI обеспечивают их корреляции с нормальными температурами кипения соединений разных таксономических групп (неаддитивный подход), поскольку точность определения $T_{\text{кип}}$ может превышать межлабораторную воспроизводимость индексов [31, 32]. Однако для ТМС-производных АК значения $T_{\text{кип}}$ при атмосферном давлении неизвестны, что сразу же означает неприменимость такого подхода. Большое число публикаций посвящено взаимосвязи хроматографических параметров удерживания и термодинамических характеристик аналитов (см., например, [33–37]). Однако относительно небольшая точность экспериментального определения термодинамических параметров привела к тому, что в подобных работах их обычно оценивают по хроматографическим данным, а не наоборот. В дополнение к этому необходимо заметить, что в последнее время значительно выросла “популярность” сложных алгоритмов оценок RI, основанных на принципах нейронных сетей [38, 39], равно как и более сложных (например, Gene Expression

Programming [40]). Однако сведения об их применении конкретно к триметилсилильным производным аминокислот отсутствуют и, следовательно, возможности простейших аддитивных схем далеко не исчерпаны. Такие схемы вполне могут быть “локальными”, т.е. ограничиваться достаточно узкой группой ТМС-производных аминокислот, поскольку попытки распространения вычислений на соединения любой химической природы приводят к снижению точности оценок. Так, например, оценки RI с использованием аддитивной схемы [29], приведенные в базе [12], для большинства ТМС-производных характеризуются доверительными интервалами ± 89 ед. инд. при доверительной вероятности 50% и ± 382 ед. инд. при доверительной вероятности 95%, что неприемлемо для практических целей.

Поскольку сами аминокислоты не могут являться объектами газохроматографического разделения из-за их цвиттер-ионной структуры, прежде всего следует проверить постоянство разностей индексов удерживания $\text{DRI} = \text{RI}(\text{бис}) - \text{RI}(\text{моно})$. Моно-ТМС-производные АК однозначно содержат фрагмент $-\text{CO}_2\text{Si}(\text{CH}_3)_3$, а бис- (при отсутствии других групп $-\text{OH}$) – фрагменты $-\text{CO}_2\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ и $-\text{NHSi}(\text{CH}_3)_3$. Наличие в молекулах иных функциональных групп может приводить к неопределенности локализации второго ТМС-фрагмента. Так, бис-ТМС-производные Ser, Thr, Tug и OH-Pro вместо фрагмента $-\text{NHSi}(\text{CH}_3)_3$ содержат фрагменты $-\text{OSi}(\text{CH}_3)_3$, в случае ТМС цистеина образование S-ТМС или N-ТМС производных приблизительно равновероятно, а для таких аминокислот, как Asn, Lys, His и Arg положение второй группы $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ становится неопределенным.

Значения $\text{DRI} = \text{RI}(\text{бис}) - \text{RI}(\text{моно})$ ТМС-производных простейших аминокислот (глицин и аланин) значительно превышают (199 и 174) аналогичные значения для пяти остальных (число охарактеризованных моно-ТМС-производных ограничено), а для фенилаланина они занижены, что, скорее всего, обусловлено экранированием фрагмента $-\text{NHSi}(\text{CH}_3)_3$ объемистой фенильной группой. За вычетом этих исключений среднее значение $\text{DRI} = \text{RI}(\text{бис}) - \text{RI}(\text{моно})$ составляет 118 ± 9 ед. инд. Однако такая величина может представлять лишь ограниченный практический интерес для оценки RI еще не охарактеризованных моно-ТМС-производных АК по данным для лучше охарактеризованных бис-ТМС-производных. Например, для моно-ТМС валина получаем

$(1228 \pm 17) - (118 \pm 9) = 1110 \pm (17^2 + 9^2)^{1/2} \approx 19$. Главная эвристическая ценность такого результата в том, что он демонстрирует существование элементов аддитивности в индексах удерживания ТМС-производных АК.

Следующий “шаг” проверки аддитивности – характеристика разностей $DRI = RI(\text{трис}) - RI(\text{бис})$, которые отчетливо разделяются на две подгруппы. Первую из них образуют аминокислоты, трис-ТМС-производные которых однозначно содержат структурный фрагмент $-N[Si(CH_3)_3]_2$: Gly (DRI = 198), Ala (261), Met (271) и, скорее всего, Arg (224). Их усреднение дает оценку 238 ± 35 (4). При этом, как и в предыдущем случае, значение этого инкремента для фенилаланина (139) значительно меньше, чем для остальных АК, из-за влияния стерических факторов. Если так, то для второй подгруппы (Ser, Thr, Asp, Gln, Glu, His) остается предположить присутствие двух структурных фрагментов $-NHSi(CH_3)_3$ и $-XSi(CH_3)_3$, где X = NH, N, O или S. Среднее значение DRI для этой подгруппы статистически значимо отличается от первого: 111 ± 16 (7). Аномально низкие значения $DRI = RI(\text{трис}) - RI(\text{бис})$ выявлены для изолейцина (DRI = 23, единичное значение RI трис-ТМС изолейцина, скорее всего, ошибочно и исключено) и триптофана (DRI = 5, природа второго атома азота в составе индольного фрагмента существенно отличается от первого). Таким образом, значения инкрементов $DRI = RI(\text{трис}) - RI(\text{бис})$ для вариантов $-NHSi(CH_3)_3 + XH \rightarrow -N[Si(CH_3)_3]_2 + XH$ и $-NHSi(CH_3)_3 + XH \rightarrow -NHSi(CH_3)_3 + XSi(CH_3)_3$ принципиально различаются.

Самым неожиданным оказывается то, что даже весьма ограниченные данные для ТМС-производных АК позволяют проверить корректность двух полученных оценок $DRI = RI(\text{трис}) - RI(\text{бис})$ 238 ± 35 и 111 ± 16 . Дело в том, что в табл. 1 отражен ранее не отмечавшийся факт, а именно наличие двух сильно различающихся величин RI для трис-ТМС лизина, а именно 1708 ± 18 (4) и 1847 ± 3 (2) (единственное значение в базе NIST [12] 1718), что свидетельствует о возможности образования его разных трис-ТМС производных. С учетом полученных выше оценок можно полагать, что большее из этих двух значений принадлежит O,N,N-трис-ТМС-производному (O,N6,N6), а меньшее – O,N,N'-трис-ТМС-производному (O,N2,N6). Если так, то мы можем оценить экспериментально не определенное до настоящего времени значение

RI бис-ТМС-лизина двумя независимыми способами, а именно вычитая из большей величины RI большее значение DRI и соответственно из меньшего – меньшее. Получаем:

$$(1847 \pm 3) - (238 \pm 35) \approx 1609 \pm 35,$$

$$(1708 \pm 18) - (111 \pm 16) \approx 1597 \pm 24.$$

Полученные независимые оценки DRI в пределах их погрешностей совпадают между собой и, следовательно, относятся к одному и тому же бис-ТМС-производному лизина (среднее значение обеих оценок – 1603).

Подобные вычисления можно продолжить и в сторону увеличения значений RI. Если мы переходим от трис-ТМС лизина к тетракис-ТМС-производному, то получаем:

$$(1847 \pm 3) + (111 \pm 16) \approx 1958 \pm 16,$$

$$(1708 \pm 18) + (238 \pm 35) \approx 1946 \pm 39.$$

Обе величины в пределах стандартных отклонений совпадают с экспериментальным значением 1934 ± 17 . Таким образом, возможности проверки предлагаемой аддитивной схемы непосредственно определяются характером массива исходных данных и подтверждают ее корректность. Правда, следует заметить, что на основании подобных оценок невозможно различить два изомерных тетракис-ТМС-производных лизина: O,N2,N2,N6- и O,N2,N6,N6-. Скорее всего, образование обоих производных приблизительно равновероятно.

К сожалению, попыткам продолжения формирования такой аддитивной схемы с оценками $DRI = RI(\text{тетракис}) - RI(\text{трис})$ препятствует объективно малое число известных значений RI тетракис-ТМС-производных (всего пять). При этом оказывается, что значения такого инкремента для Glu (226) и Lys (226) закономерно соответствуют величине $DRI = RI(\text{трис}) - RI(\text{бис})$ для трансформации структуры $-NHSi(CH_3)_3 + XH \rightarrow -N[Si(CH_3)_3]_2 + XH$. Значение DRI для Cys оказывается аномально большим (405, что, видимо, определяется наличием группы $-SH$), а для тетракис-ТМС производных Asn и Arg они отрицательны, что заставляет усомниться в правильности для них значений RI. Однако нельзя отрицать полезность даже таких ограниченных оценок. Например, в примечаниях к табл. 1 отмечено, что единственное известное значение RI для

тетраakis-ТМС-производного аспарагиновой кислоты (1541) в пределах погрешности не отличается от значения *RI триc*-ТМС-производного (1518 ± 26). С высокой вероятностью оно ошибочно. Значение *RI* этого производного в соответствии со сформированной аддитивной схемой должно составлять $(1518 \pm 26) + (238 \pm 35) \approx 1756 \pm (26^2 + 35^2)^{1/2} \approx 44$.

Стоит обратить внимание, что значения стандартных отклонений полученных оценок *RI* достаточно велики, что является не недостатком аддитивной схемы, а, скорее, ее преимуществом. Они определяются исключительно разбросом известных справочных данных и не могут быть искусственно уменьшены.

Именно сравнение данных для различных ТМС-производных позволяет выявлять явно ошибочные значения *RI*, поскольку иными способами это сделать сложно. В первую очередь это относится к АК, которые могут образовывать производные с $n(\text{ТМС}) \geq 4$, в том числе Asp, Asn, Glu и Arg. Так, для аспарагиновой кислоты известно значение *RI тетраakis*-ТМС-производного (1541), которое совпадает со значением *RI триc*-ТМС-производного (1544) [12], и поэтому его следует считать ошибочным. Для аргинина известно значение *RI тетраakis*-ТМС-производного (1632) меньше *RI триc*-ТМС-производного (1814), но совпадает с данными для *пентаkis*-ТМС-производного (1632, 1640). Очевидно, что эти значения не могут принадлежать *тетра*- и *пентаkis*-производным, однако установить точное число и положение ТМС-групп в молекуле по этим данным не представляется возможным. Весьма сложный случай выявлен для аспарагина, у которого большая часть известных значений *RI тетраakis*-ТМС-производного (1673 ± 10) не отличается от *RI триc*-ТМС Asp (1681 ± 10) и, следовательно, ошибочна. Только одно значение $1863 > 1681$ можно полагать корректным, и оно может быть приписано *тетраakis*-ТМС-производному. Таким образом, такой критерий, как число независимо определенных значений *RI*, нельзя считать надежным во всех случаях. Объективной причиной подобных ошибок оказывается невозможность установления количества триметилсилильных групп по масс-спектрометрическим данным. Подобные примеры иллюстрируют как сложность рассматриваемой проблемы, так и необходимость систематизации индексов удерживания ТМС-производных аминокислот

как самостоятельную и нередко достаточно трудоемкую задачу.

Комментируя статистически обработанные индексы удерживания, следует заметить, что при их дополнении новыми данными как средние значения *RI*, так и их стандартные отклонения могут незначительно изменяться (различия не выходят за пределы стандартных отклонений). Этот эффект хорошо заметен при сравнении информации для одних и тех же соединений в различных выпусках базы данных [12] (2005, 2008, 2011, 2014, 2017, 2020 и 2023 гг.).

* * *

Таким образом, систематизацию известных газохроматографических индексов удерживания (*RI*) различных соединений на стандартных неполярных полидиметилсилоксановых неподвижных фазах (на примере триметилсилильных производных аминокислот), включающую группирование значений *RI* разных производных одних и тех же аминокислот по числу триметилсилильных групп в молекуле и их последующую статистическую обработку, следует считать важнейшей стадией контроля справочных газохроматографических данных. Получение простейших аддитивных оценок индексов даже на основании ограниченных массивов данных представляет значительный интерес для оценки еще неизвестных значений *RI*, проверки правильности существующих данных, а также выявления ошибочных значений.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Финансирование настоящей работы осуществлялось за счет средств бюджета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования “Санкт-Петербургский государственный университет”, Институт химии. Дополнительных грантов на проведение или руководство этим конкретным исследованием получено не было.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор данной работы заявляет, что у него нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сунозова Е.В., Трубников В.И., Сакодынский К.И. Газовая хроматография аминокислот. М.: Наука, 1976. 83 с.

2. CRC Handbook of Chromatography. Amino Acids and Amines / Ed. Blackburn S. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 1989. 424 p.
<https://doi.org/10.1201/9781003210337>
3. *Molnar-Perl I.* Quantitation of Amino Acids and Amines by Chromatography: Methods and Protocols. Amsterdam: Elsevier, 2005. 655 p. (J. Chromatogr. Series. V. 70).
4. *Engel M.H., Hare P.E.* Gas-liquid chromatographic separation of amino acids and their derivatives / Chemistry and Biochemistry of the Amino Acids / Ed. Barrett G.C. Dordrecht: Springer, 1985. Ch. 16. P. 462.
https://doi.org/10.1007/978-94-009-4832-7_16
5. Derivatization of analytes in chromatography: General aspects / Encyclopedia of Chromatography. 3rd Ed. / Ed. Cazes J. New York: Taylor & Francis, 2010. V. 1. P. 562.
6. Amines, amino acids, amides and imides: Derivatization for GC analysis / Encyclopedia of Chromatography. 3rd Ed. / Ed. Cazes J. New York: Taylor & Francis. 2010, V. 1. P. 50.
7. Amino acids: HPLC analysis / Encyclopedia of Chromatography. 3rd Ed. / Ed. Cazes J. New York: Taylor & Francis, 2010. V. 1. P. 67.
8. Amino acids: HPLC analysis advanced techniques / Encyclopedia of Chromatography. 3rd Ed. / Ed. Cazes J. New York: Taylor & Francis, 2010. V. 1. P. 73.
9. *Babu V.V.S., Vasanthakumar G.-R., Tantry S.J.* N-Silylation of amines and amino acids esters under neutral conditions employing TMS-Cl in the presence of zinc dust // Tetrahedron Lett. 2005. V. 46. P. 4099.
<https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2005.04.007>
10. *Зенкевич И.Г., Пушкарёва Т.И.* Хроматографическая и хромато-масс-спектрометрическая характеристика производных аминокислот, образующихся при их взаимодействии с диметилацеталем диметилформамида // Журн. общ. химии. 2015. Т. 85. № 8. С. 1365.
<https://doi.org/10.1134/S107036325080204>
(*Zenkevich I.G., Pushkareva T.I.* Chromatographic and chromat-mass-spectral characterization of amino acids derivatives formed vis the interaction with dimethylacetal of dimethylformamide // Russ. J. Gen. Chem. 2015. V. 85. № 8. P. 1918.)
11. *Fodor B., Csampai A., Molnar-Perl I.* Hexamethyl-diisilazane and perfluorocarboxylic acid couples achieve trialkylsilylation and acylation of active proton containing organics in a single step // Microchem. J. 2020. V. 154. Article 104554. 7 p.
12. The NIST Mass Spectral Library (NIST/EPA/NIH EI MS Library, 2017 Release). Software/Data Version; NIST Standard Reference Database, Number 69, August 2017. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD 20899:
<http://webbook.nist.gov> (дата обращения: сентябрь 2023 г.).
13. *Bergstrom K., Gurtler J., Blomstrand R.* Trimethylsilylation of amino acids: I. Study of glycine and lysine TMS derivatives with gas-liquid chromatography – mass spectrometry // Anal. Biochem. 1970. V. 34. № 1. P. 74.
[https://doi.org/10.1016/0003-2697\(70\)90088-6](https://doi.org/10.1016/0003-2697(70)90088-6)
14. *Bergstrom K., Gurtler J.* Trimethylsilylation of amino acids: II. Gas chromatographic and structural studies on TMS derivatives of straight chain amino acids // Acta Chem. Scand. 1971. V. 25. P. 175.
15. *Quero A., Jousse C., Lequart-Pillon M., Goutier E., Guillet X., Courtois B. et al.* Improved stability of TMS derivatives for the robust quantification of plant polar metabolites by GC-MS // J. Chromatogr. B. 2014. V. 970. P. 36.
<https://doi.org/10.1016/j.ichromb.2014.08.040>
16. *Engel B., Suralik P., Marchetti-Deschmann M.* Critical consideration for trimethylsilyl derivatives of 24 primary metabolites measured by gas chromatography – tandem mass spectrometry // SSC Plus. 2020. V. 3. № 9. P. 407.
<https://doi.org/10.1002/sscp.202000025>
17. *Isidorov V.A., Bagan R., Szczepaniak L., Swiecicka I.* Chemical profile and antimicrobial activity of extractable compounds of *Betula litwinowii* (Betulaceae) buds // De Gruyter Open Chem. 2015. V. 13. P. 125.
<https://doi.org/10.1515/chem.-2015-0019>
18. *Isidorov V.A.* GC-MS of Biologically and Environmentally Significant Organic Compounds. TMS-Derivatives. Hoboken, USA: J. Wiley & Sons, 2020. 720 p.
19. *Lee B.Y., Yanamandra K., Thurmon T.F.* Quantitative estimation of organic analytes with a capillary column // Amer. Clin. Lab. 2002. № 5. P. 30.
20. *Zenkevich I.G.* Prevention of a dangerous tendency in the presentation of the results of GC-MS identification // Anal. Bioanal. Chem. 2013. V. 405. P. 3075.
<https://doi.org/10.1007/s00216-013-6751-2>
21. *Benson S.W. III.* Bond energies // J. Chem. Educ. 1965. V. 42. № 9. P. 502.
<https://doi.org/10.1021/ed042-p502>
22. *Gajewski E., Dizdaroglu M., Simic M.G.* Kovats indices of trimethylsilylated amino acids on fused-silica capillary columns // J. Chromatogr. 1982. V. 249. P. 41.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)90231-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)90231-9)
23. *Kempa S., Hummel J., Schwemmer T., Pitzke M., Strehmel N., Wiankoop S. et al.* An automatic GCxTOF-MS protocol for batch-wise extraction and alignment of mass isotopomer matrixes from differential ¹³C-labeling experiments // J. Basic Microbiol. 2009. V. 49. № 1. P. 82.
<https://doi.org/10.1002/jobm.200800337>
24. *Choi H., Moon J.-K., Seo J.-S., Kim J.-H.* Establishment of retention index library on gas chromatography – mass spectrometry for non-targeted metabolite profiling approach // J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 2013. V. 56. P. 87.
<https://doi.org/10.1007/s13763-012-2376-y>
25. *Bani Rashaid A.H., Jackson G.P., Harrington P. de B.* Quantification of amino acids on human hair by trimethylsilyl derivatization gas chromatography / mass

- spectrometry // Enliven Archive (www.enlivenarchive.org). 2014. V. 1. № 1. 12 p.
26. *Rousseuw P. J., Croux C.* Alternatives to the median absolute deviation // *J. Am. Stat. Assoc.* 1993. V. 88. № 424. P. 1273.
<https://doi.org/10.1080/01621459.1993.10476408>
 27. *Howell D.C.* Median absolute deviation / Wiley Stat. Ref: Statistic Reference Online, 2014.
<https://doi.org/10.1002/9781118445112.stat06232>
 28. *Fitch C.A., Platzer G., Okon M., Garcia-Moreno E.B., McIntosh L.P.* Arginine: Its pK_a value revisited: pK_a value of arginine // *Protein Sci.* 2015. V. 24. № 5. P. 752.
<https://doi.org/10.1002/pro.2647>
 29. *Stein S.E., Babushok V.I., Brown R.L., Linstrom P.J.* Estimation of Kovats retention indices using group contributions // *J. Chem. Inf. Model.* 2007. V. 47. P. 975.
<https://doi.org/10.1021/ci600548y>
 30. *Zenkevich I.G., Todua N.G., Mikaia A.I.* Unusual regularity in GC retention of simple amino acid derivatives // *Current Chromatogr.* 2019. V. 6. P. 1. doi: 10.2174/2213240606666/90709/100858
 31. *Zenkevich I.G., Kuznetsova L.M.* A new approach to the prediction of GC retention indices from physico-chemical constants // *Collect. Czech. Chem. Commun.* 1991. V. 56. № 10. P. 2042.
 32. *Zenkevich I.G.* Reciprocally unambiguous conformity between GC retention indices and boiling points within two- and multidimensional taxonomic groups of organic compounds // *J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.* 1998. V. 21. № 10. P. 565.
 33. *Dose E.V.* Simulation of gas chromatographic retention and peak width using thermodynamic retention indices // *Anal. Chem.* 1087. V. 59. № 19. P. 2414. doi: 10.1021/ac00146a020
 34. *Ciazynska-Halarewicz K., Kowalska T.* Mathematical model of solute retention in gas chromatography as sources of thermodynamic data. Part I. Methyl-n-alkyl ketones as the test analytes // *J. Chromatogr. Sci.* 2002. V. 40. № 9. P. 421.
<https://doi.org/10.1093/chromsci/40.8.421>
 35. *Kowalska T., Heberger K., Gordenyi M.* Temperature dependence of Kovats indices in gas chromatography. Explanation of empirical constants by use of transition-state theory // *Acta Chromatogr.* 2003. № 13. P. 60.
 36. *Karolat B., Harynik J.J.* Prediction of gas chromatographic retention times via an additive thermodynamic model // *J. Chromatogr. A.* 2010. V. 1217. P. 4862.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.05.037>
 37. *Портнова С.В., Ямщикова Ю.Ф., Красных Е.Л.* Характеристики удерживания и энтальпии сорбции эфиров природных гидроксикарбоновых кислот на неподвижной фазе DB-1 // *Журн. физ. химии.* 2019. Т. 93. № 3. С. 464.
<https://doi.org/10.1134/S0036024419020213>
 38. *Idroes R., Noviandy T.R., Maulana A., Syhendra R., Sasmita N.R., Muslem M. et al.* Application of genetic algorithm – multiple linear regression and artificial neural network determination for prediction of Kovats retention index // *Int. Rev. Model. Simulat.* 2021. V. 14. № 2. P. 137.
<https://doi.org/10.15866/iremos.v14i2.20460>
 39. *Qu C., Schneider B.I., Kearsley A.J., Keyrouz W., Allison T.C.* Predicting Kovats retention indices using graph neural networks // *J. Chromatogr. A.* 2021. V. 1646. Article 462100.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462100>
 40. *Zhang X., Shi L., Ding L., Sun Z., Song L., Qu H., Sun T.* Study on quantitative structure – retention relationships (QSRR) for oxygen-containing organic compounds based on gene expression programming (GEP) // *J. Chromatogr. Sep. Tech.* 2015. V. 6. № 7. P. 1.
<https://doi.org/10.4172/2157-7064.1000306>

SYSTEMATIZATION OF THE GAS-CHROMATOGRAPHIC PARAMETERS OF TRIMETHYLSILYL DERIVATIVES OF AMINO ACIDS

I. G. Zenkevich^{a, *}*St. Petersburg State University, Institute for Chemistry, 198504, St. Petersburg, Russia***E-mail: izenkevich@yandex.ru*

Abstract. The gas-chromatographic retention indices (RIs) of trimethylsilyl (TMS) derivatives of the simplest amino acids on standard nonpolar polydimethylsiloxane stationary phases were systematized. This processing of data included combining them for derivatives of the same amino acids depending on the number of TMS groups (from one to four) and calculating average RI values together with their standard deviations based on data from various sources of information. This form of presenting the results made it possible to identify the best characterized derivatives and evaluate the reliability of the retention indices known for them. The simplest additive scheme for calculating retention indices based on even limited data for the most common amino acids was formed to estimate their unknown values, control previously determined values, and identify erroneous data. The increment $\Delta RI = RI(\text{bis}) - RI(\text{mono})$ for the transformation $-\text{CO}_2\text{Si}(\text{CH}_3)_3 + -\text{NH}_2 \rightarrow -\text{CO}_2\text{Si}(\text{CH}_3)_3 + -\text{NHSi}(\text{CH}_3)_3$ was well reproducible (118 ± 9). The other increments $\Delta RI = RI(\text{tris}) - RI(\text{bis})$ were different for the transformations $-\text{NHSi}(\text{CH}_3)_3 + \text{XH} \rightarrow -\text{N}[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]_2 + \text{XH}$ (238 ± 35) and $-\text{NHSi}(\text{CH}_3)_3 + \text{XH} \rightarrow -\text{NHSi}(\text{CH}_3)_3 + + -\text{XSi}(\text{CH}_3)_3$ (111 ± 16). A method for monitoring the correctness of the obtained values of ΔRI was proposed.

Keywords: trimethylsilyl derivatives of amino acids, systemization of retention indices, additive scheme for evaluating indices.