

Organic experiment Unit.5

実験者: No.7 05253011 Fumiya Kashiwai / 柏井史哉

実験日: 7/16, 17, 22, 10/2, 6

1 未知試料の分離、同定

1.1 Purpose and Background

2種類の有機化合物の混合物を、化学的性質を用いて分離、精製する。また、精製した試料に対して官能基試験を行うとともに物性や分光学的スペクトルを取得し、化合物を同定する。

1.2 Experimental

1.2.1 未知資料の分離

1. 外観を観察すると、薄黄色の板状結晶の固体 (**A**) と、白色の針状結晶の混合物 (**B**) であった。スパチュラを用いて大まかに分離した。
2. 荒く分離したそれぞれの試料の hexane、DCM、Et₂O への溶解度を調べた。
3. それぞれの DCM 溶液を TLC 展開 (hexane: EtOAc = 2:1) した。p-anisaldehyde を噴射し、加熱して呈色の様子を調べた。
4. **A**、**B** の混合物を試験管に微量取り、1M NaOH_{aq}. と DCM をそれぞれ 1 mL 程度加えて振盪した。各層の溶液を TLC 展開 (hexane: EtOAc = 2:1) した。
5. 荒く分離した **B** を Et₂O 10 mL に溶解し、10 mL の 1M NaOH_{aq}. で 2 回抽出した。水層を集めて 1M HCl_{aq}. で中和したところ白色固体が析出した。
6. 水層から析出した白色固体を吸引濾過、水で洗浄、風乾した。
7. エーテル層を少量の Brine で洗浄し、無水 MgSO₄ により乾燥し、溶媒をエバポレーターで減圧 (35°C/300 mmHg) して除去した。
8. 精製した **A**、**B** の融点を測定したところ、**A** は 54 – 55°C、**B** は 163 – 164°C であった。
9. IR スペクトル (nujol)、¹H NMR スペクトルを測定した。それぞれ fig.3 - 7 に示す。

1.2.2 官能基試験

1. 精製した **A**、**B** 10 mg 程度をそれぞれ極少量の MeOH に溶解し、Brady 試薬を加え、振盪したところ、**A** は変化がなく、**B** では赤色沈澱が生じた。
2. **A** 0.05 g をアセトン 0.5 mL に溶解し、1% KMnO₄ を 1 滴滴下し、数分放置したが脱色は生じなかった。

3. 濃 H_2SO_4 10 滴に、スパチュラ 1 杯の **A** を加えると溶解し、黄色い溶液となった。

1.2.3 **A** の誘導体の合成

1. スターラーを入れた 30 mL フラスコに濃 HCl_{aq} 1mL を加えた。
2. SnCl_2 0.54 g、**A** 0.05 g を加えた。
3. 攪拌しながら 70°C のオイルバスで 10 min 還流した。
4. TLC で還元反応の完了を確認し、加熱を終了、粒状の NaOH を加えたところ白濁した。pH 試験紙を用いて pH を測定すると $\text{pH} = 11$ であった。
5. Et_2O 10 mL により 3 回抽出を行った。
6. Et_2O 層を合わせるとやや白濁していた。水 20 mL を用いて洗浄すると水層が白濁し、 Et_2O 層の白濁が薄まった。
7. Brine 20 mL を用いて Et_2O 層を洗浄し、無水 MgSO_4 を加えて乾燥し、濾過して除去した。
8. エバポレーターで溶媒を除去し、黄色い結晶を得た。得た固体の融点は $45 - 47^\circ\text{C}$ であった。また、 $R_f = 0.68$ (hexane : $\text{AcOEt} = 2:1$) であった。
9. ^1H NMR スペクトルを測定した。測定結果は fig. 8 に示す。

1.3 Results and Discussion

溶媒への溶解度は、table.1 に示したようになった。また、TLC 展開において、UV 照射下で $R_f = 0.87$ にピンク色、 $R_f = 0.17$ に青色のスポットが呈色した。どちらのピークも *p*-anisaldehyde の噴射、加熱によって呈色しなかった。荒く分離した試料において、試料 **A** では $R_f = 0.87$ のみが、試料 **B** では $R_f = 0.87, 0.17$ の双方が確認された。試料 **A** はほぼ純粋に分離できているが、荒く分離した試料 **B** には **A** がコンタミネーションしていたと考えられる。

表 1: **A**, **B** の溶媒への溶解度

solvent	A	B
hexane	難溶	難溶
DCM	可溶	難溶
Et_2O	可溶	可溶

NaOH_{aq} と Et_2O による分離操作では、UV 照射下で油層に $R_f = 0.87$ 、水層では原点にとどまるスポットが呈色した。これより、油層には **A** が留まり、水層には **B** が塩として移動したと考えられる。また、これより NaOH_{aq} と Et_2O により分離が可能であることが確認できた。

^1H NMR スペクトルでは、試料 **A** の芳香族領域に 2 本の doublet (積分比がそれぞれ 2 程度) が見られることから、芳香族の *p*-2 置換体と考えられる。また、2.46 ppm の singlet (積分比 3.26) はメチル基の存在を示唆し、toluene の *p*-置換体と考えられる。1.53 ppm のピークは溶媒の水に帰属される [1]。試料 **A** にこれ以外の水素は存在しないと考えられる。IR スペクトルで 1524 cm^{-1} に中程度の吸収が見られ、試料 **A** は

p-nitro-toluene (fig.1 の化合物 **1**) と推測した。

SnCl₂ を用いて試料 **A** を還元すると *p*-amino-toluene (*p*-toluidine) が生成すると期待される。実際、合成した化合物の融点は 45 – 47°C (文献値: 45°C) であり、¹H NMR スペクトル (fig. 8) も *p*-toluidine の構造を支持する。

具体的には、6.61 ppm, 6.96 ppm にそれぞれ存在する doublet は芳香族領域の中では高磁場であり、電子供与基の存在が示唆される。また、3.52 ppm の broad した 2H は、アミノ基に帰属される。

さらに、反応終了後の酸性条件から塩基性条件に変えると白濁したことから、塩基性のアミノ基の存在が示唆される。

以上から **A** を *p*-nitro-toluene と同定した。

B では、Brady 試薬で赤色の沈澱が見られたことから、カルボニル基の存在が示唆される。¹H NMR スペクトル (fig. 4) の芳香族領域の 4H のカップリングより、*o*-2 置換体であると考えられる。また、6.94 ppm, 7.01 ppm の 2H は比較的高磁場であり、電子供与基の存在が示唆される。反面、7.9 ppm 程度の 2H は比較的低磁場であり、電子吸引基の存在が示唆される。Brady 試験と合わせ、安息香酸の *o*-置換体であると予測される。

融点の測定値 163 – 164°C はサリチル酸の文献値: 162 – 165°C とよく一致する。2.5 ppm 付近に非常にんだらかなシグナルが見られる。サリチル酸では分子内および分子間水素結合を形成すると考えられ、ヒドロキシ基およびカルボニル酸の H が 10.45 ppm, 2.5 ppm 程度に出現している可能性がある。今回は CDCl₃ を溶媒として用いたが、DMSO を用いることで水素結合の影響を抑えてシャープなスペクトルを得られる可能性がある [3]。

そのほかのピークを含め、帰属結果を fig.5 に示した。IR スペクトルについても、table.2 および table.3 に示した。

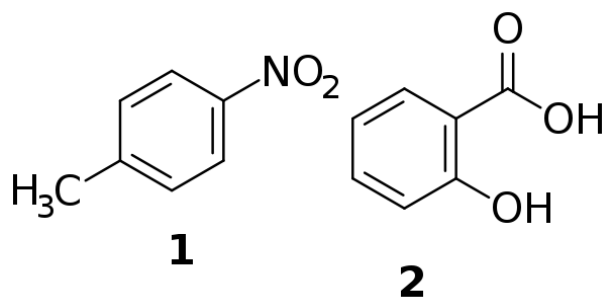


図 1: 同定した構造

2 誘導体の合成

2.1 Purpose and Background

精製したサリチル酸から誘導体を合成し、安定な結晶性物質を得る。誘導体の物性、スペクトルにより同定を行う。

アセチル化により結晶性のアセチルサリチル酸を得ることができる [2]。

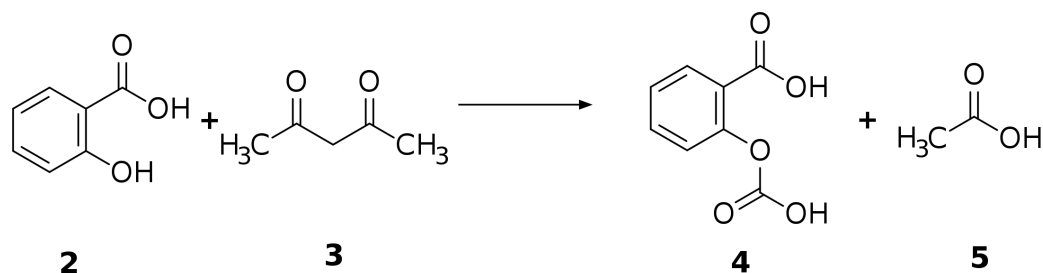


図 2: 誘導体の合成スキーム

2.2 Experimental

■First Try

1. day3 までに精製した化合物 **2** 0.37 g を 50 mL フラスコにとり、化合物 **3** 3 mL を滴下した。
2. 濃硫酸を 2 滴滴下したところ、発熱を伴いながら無色透明から黄色がかった透明溶液に変化した。
3. TLC で反応の進行を 15 分後に確認し、水 20 mL 程度を加えたのち NaHCO_3 粉末を、発泡が止まるまで加え、pH が 8 程度であることを確認した
4. 分液ロートに移し、さらに水を 30 mL 程度加えて固体を完全に溶解させた。EtOAc を 50 mL 程度加え、分液操作を行なった。
5. 得られた EtOAc 層を Brine 20 mL で洗浄した。
6. 無水 Na_2SO_4 を加え乾燥し、濾過により除いた。
7. 得られた EtOAc 層をエバポレーター (70 mmHg / 35°C) にかけて、溶媒を除去した。
8. なすフラスコの壁面に微量の白色結晶を認めた。これをごく少量の EtOAc に溶解し、TLC を行なった。

■Second Try

1. 純粋な化合物 **2** 0.10 g を 50 mL フラスコにとり、化合物 **3** 3 mL を滴下した。
2. 濃硫酸を 2 滴滴下したところ、発熱を伴いながら無色透明から黄色がかった透明溶液に変化した。
3. 15 分後に水 20 mL 程度を加えたのち NaHCO_3 粉末を、発泡が止まるまで加え、pH 8 であることを確認した
4. 分液ロートに移し、さらに水を 30 mL 程度加えて固体を完全に溶解させた。EtOAc を 50 mL 程度加え、分液操作を行なった。
5. 得られた EtOAc 層を Brine 20 mL で洗浄した。
6. 無水 Na_2SO_4 を加え乾燥し、濾過により除いた。
7. 得られた EtOAc 層をエバポレーター (100 mmHg / 35°C) にかけて、溶媒を除去した。
8. 得られた微量の白色固体の融点の測定値は、 $132 - 134^\circ\text{C}$ (文献値: 135°C) であった。

2.3 Results and Discussion

TLC (展開溶媒 hexane : AcOEt = 2 : 1) でアセチル化を追跡した。15 min の反応後、出発物のスポット ($R_f = 0.55$) は消失し、新たな単一のスポット ($R_f = 0.45$) が出現した。両者は UV 照射下で呈色した。硫酸の滴下により発熱が生じるとともに色の変化が見られることから、反応は極めて迅速に進行し、スターラーによる攪拌なしでも 15 min で完全に反応が進行すると考えられる。得られた結晶の融点は 132 - 134°C (化合物 **3** の文献値: 135°C) であり、文献値と概ね一致していた。これよりアセチルサリチル酸 **4** が高純度で合成できたと考えられる。しかしながら精製物は微量であり、収率は好ましくなかった。また、First Try では化合物 **4** が得られなかった。

収率が低かった要因としてはまず分液操作が不完全であった可能性があげられる。有機層への抽出が 1 回のみでは不十分であった可能性が高い。水層と有機層を TLC で適宜モニターしながら抽出回数を決定すべきであった。

それに加え、一回めの試行では 7 月に精製し、実験室に放置したサンプルを用いたため劣化していた可能性がある。

Reference

- [1] Hugo E. Gottlieb, Vadim Kotlyar, and Abraham Nudelman, NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 7512-7515.
- [2] Zhong-Duo Yang, Zhu-Wen Song, Jin Ren, Ming-Jun Yang, Shuo Li. Improved Thin-layer Chromatography Bioautographic Assay for the Detection of Acetylcholinesterase Inhibitors in Plants. *Phytochemical Analysis*. **2011**, 22(6), 509-515.
- [3] Michael H. Abraham, Raymond J. Abraham, William E. Acree, Jr., Abil E. Aliev, Al J. Leo, William L. Whaley. An NMR Method for the Quantitative Assessment of Intramolecular Hydrogen Bonding; Application to Physicochemical, Environmental, and Biochemical Properties. *J. Org. Chem.* **2014**, 79, 22, 11075-11083

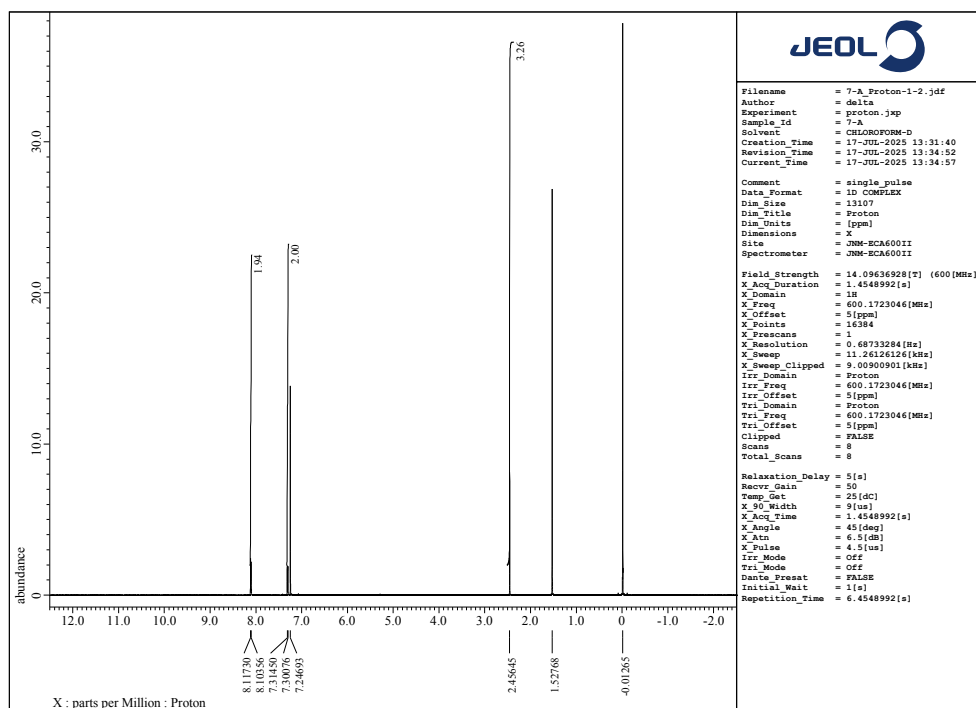
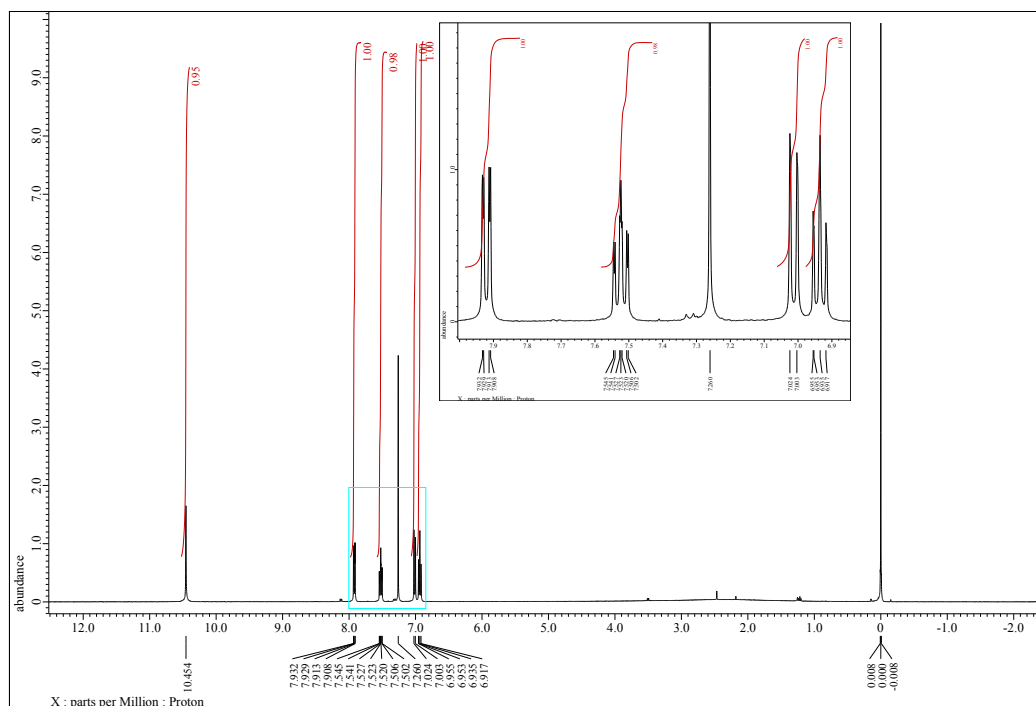
3 Appendix

表 2: IR: 5-A の帰属

No.	Wavenumber [cm-1]	Intensity	attribution
1	2923	strong	nujol
2	2853	strong	nujol
3	1601	mid	
4	1524	strong	N-O stretch
5	1496	weak	
6	1464	strong	nujol
7	1376	mid	N-O stretch
8	1345	strong	nujol?
9	1318	weak	nujol?

表 3: IR: 5-B の帰属

No.	Wavenumber [cm-1]	Intensity	attribution
1	2953	strong	C-H stretch (芳香族)?
2	2924	strong	nujol
3	2853	strong	nujol
4	1660	mid	C=O stretch
5	1612	mid	?
6	1463	strong	nujol
7	1377	mid	nujol

図 3: A の ^1H NMR スペクトル (CDCl_3)図 4: B の ^1H NMR スペクトル (CDCl_3)

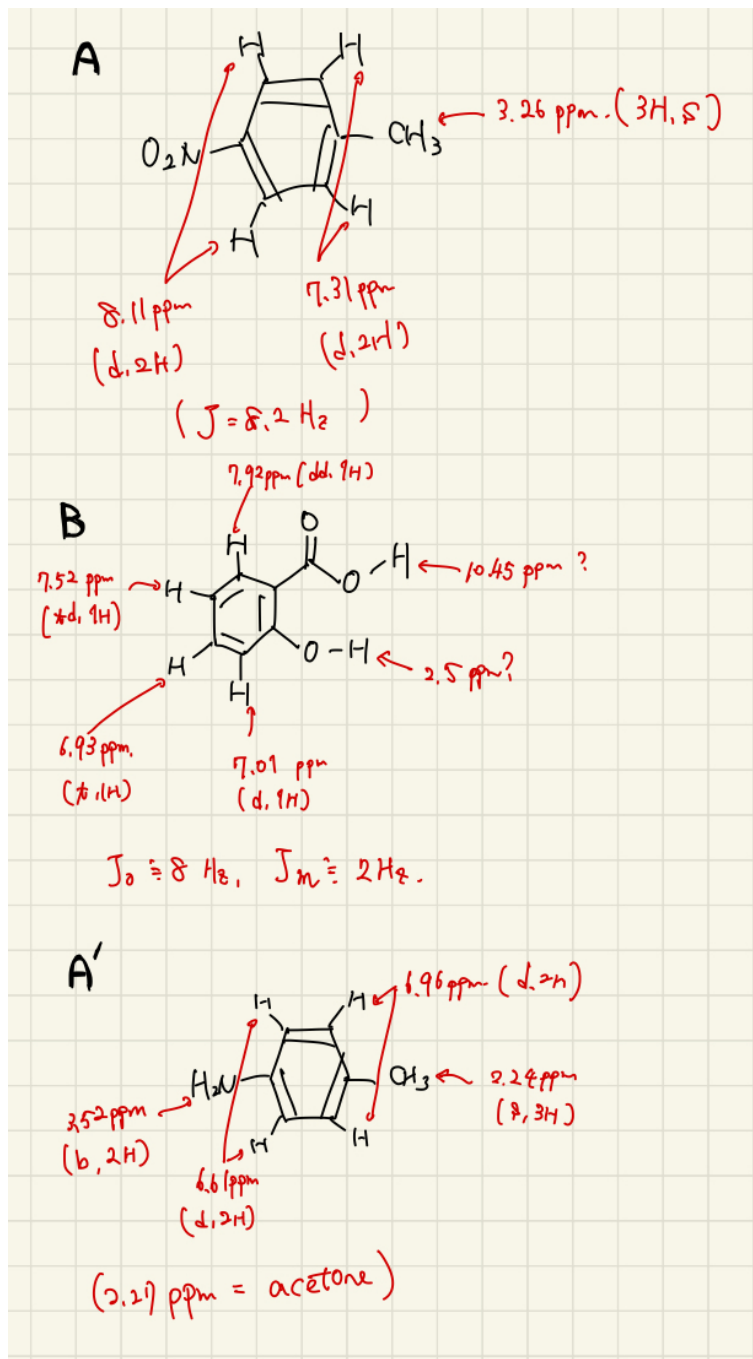


図 5: NMR スペクトルの帰属

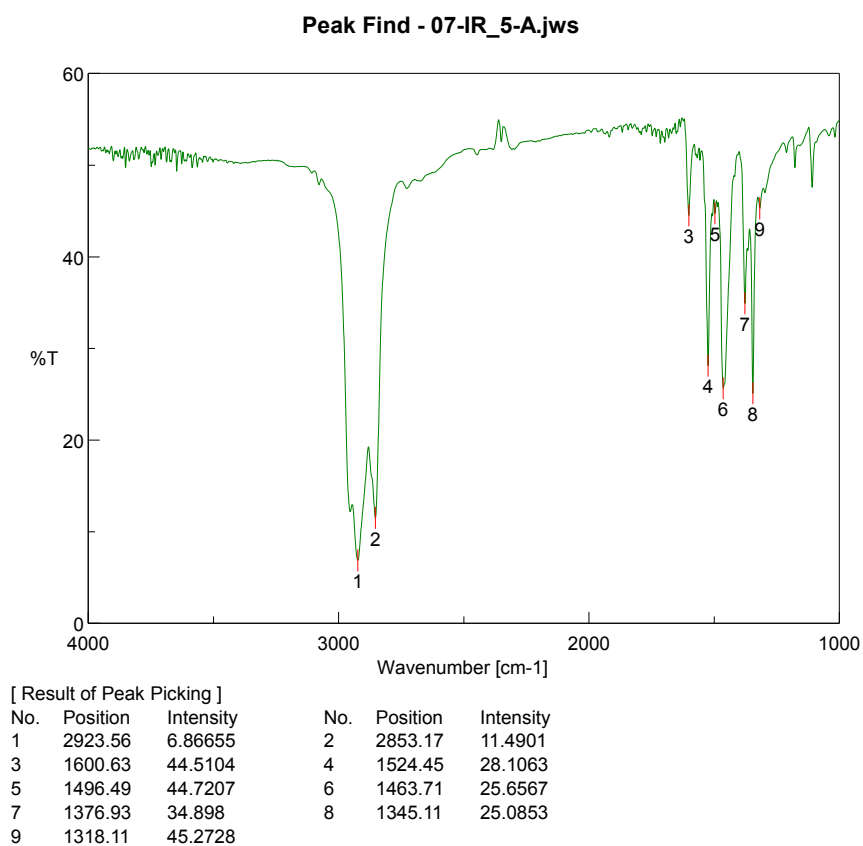


図 6: IR:5-1-A

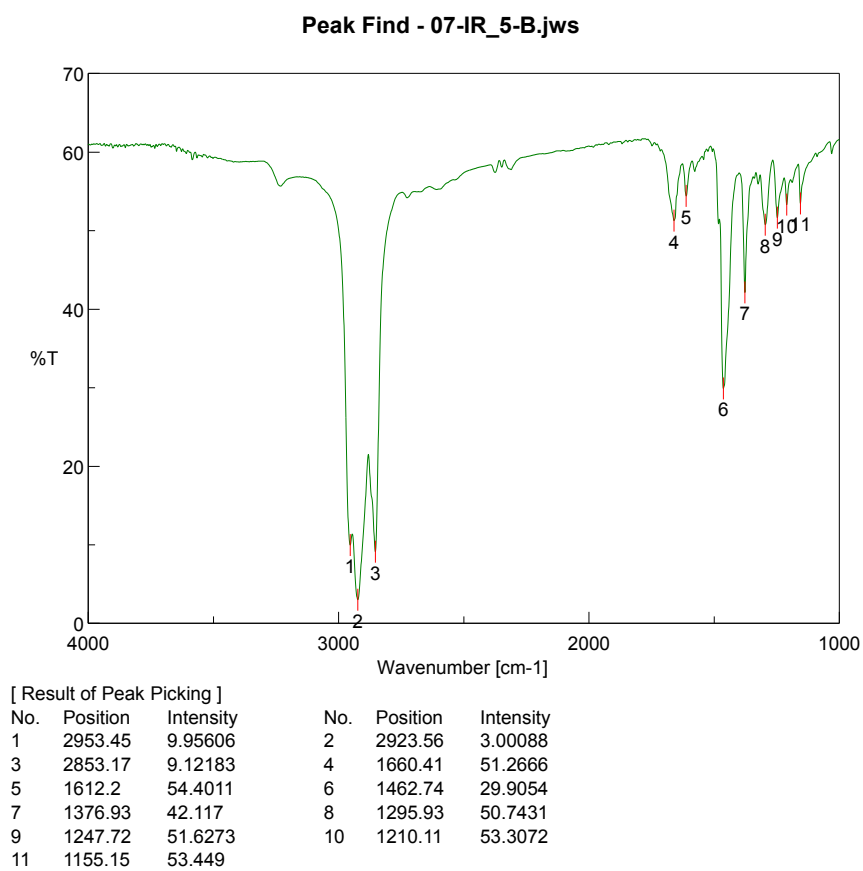
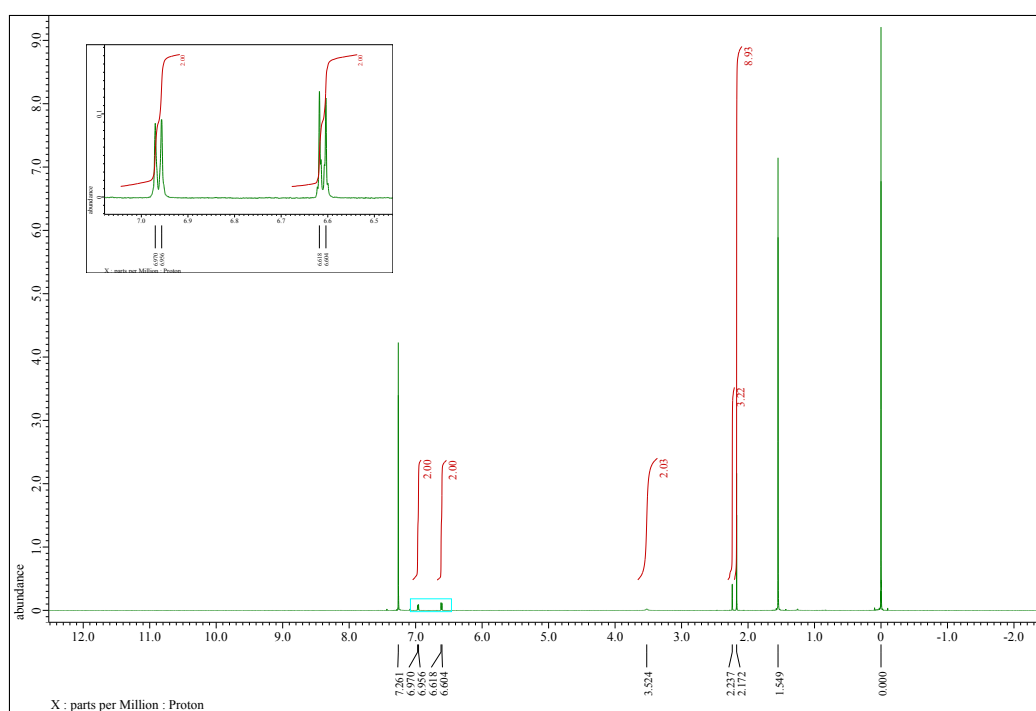


図 7: IR:5-1-B

図 8: A の誘導体の ^1H NMR スペクトル (CDCl_3)