

フェノールフタレインおよびフルオレセインのハロゲン化による 新しい酸塩基指示薬の合成

川原田 文^{†,*}・根岸 唯^{‡,\$}・鈴木 俊彰^{†,‡,¶}

Syntheses of Novel Acid-Base Indicators by Halogenation of Phenolphthalein and Fluorescein

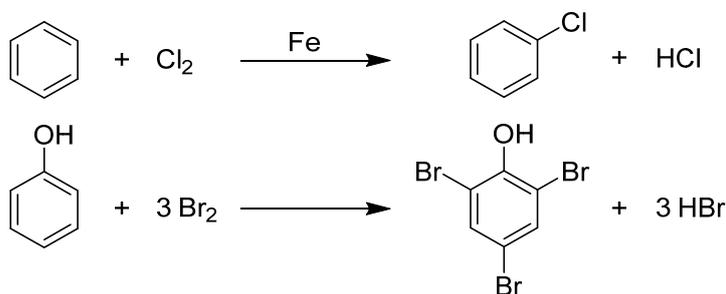
Aya KAWARADA, Yui NEGISHI, Toshiaki SUZUKI

Abstract:

Phenolphthalein reacted with excess bromine in acetic acid to give tetrabromophenolphthalein by the bromination of the phenolic benzene rings, the color of which is colorless in the acidic or neutral solution but is purple in alkaline solutions. The bromination of phenolphthalein in highly concentrated bromine solution led to decomposition to give 2,4,6-tribromophenol. The reaction of phenolphthalein with excess iodine monochloride in acetic acid to give tetraiodophenolphthalein by the iodation of the phenolic benzene rings, the color of which changed from colorless to bluish violet in alkaline solutions. Tetrabromofluorescein and diiodofluorescein were formed, respectively, by the reaction of fluorescein with excess bromine and excess iodine monochloride in acetic acid.

1. はじめに

『高等学校 化学』では、「芳香族化合物」の單元においてベンゼン環のハロゲン化反応について学ぶ。例えば、Scheme 1 に示すように、ベンゼン C_6H_6 は、鉄粉 Fe を触媒として塩素 Cl_2 を作用させると、ベンゼンの水素原子 H が塩素原子 Cl で置換され、クロロベンゼン C_6H_5Cl を生じる。また、フェノール C_6H_5OH は、電子供与性の水酸基 OH が結合しているため、ベンゼンよりも置換反応を受けやすく、触媒を加えなくとも臭素 Br_2 と反応し、2,4,6-トリブロモフェノールを生じる。



Scheme 1. Halogenation of benzene and phenol

そこで、本研究では、酸塩基指示薬¹として用いられているフェノールフタレイン **1a** および蛍光色素²のフルオレセイン **2a** のハロゲン化による新しい酸塩基指示薬や蛍光色素の合成を行い、その構造や酸塩基指示薬としての有用性について検討することとした。

[†] 横浜国立大学教育学研究科

[‡] 横浜国立大学教育人間科学部

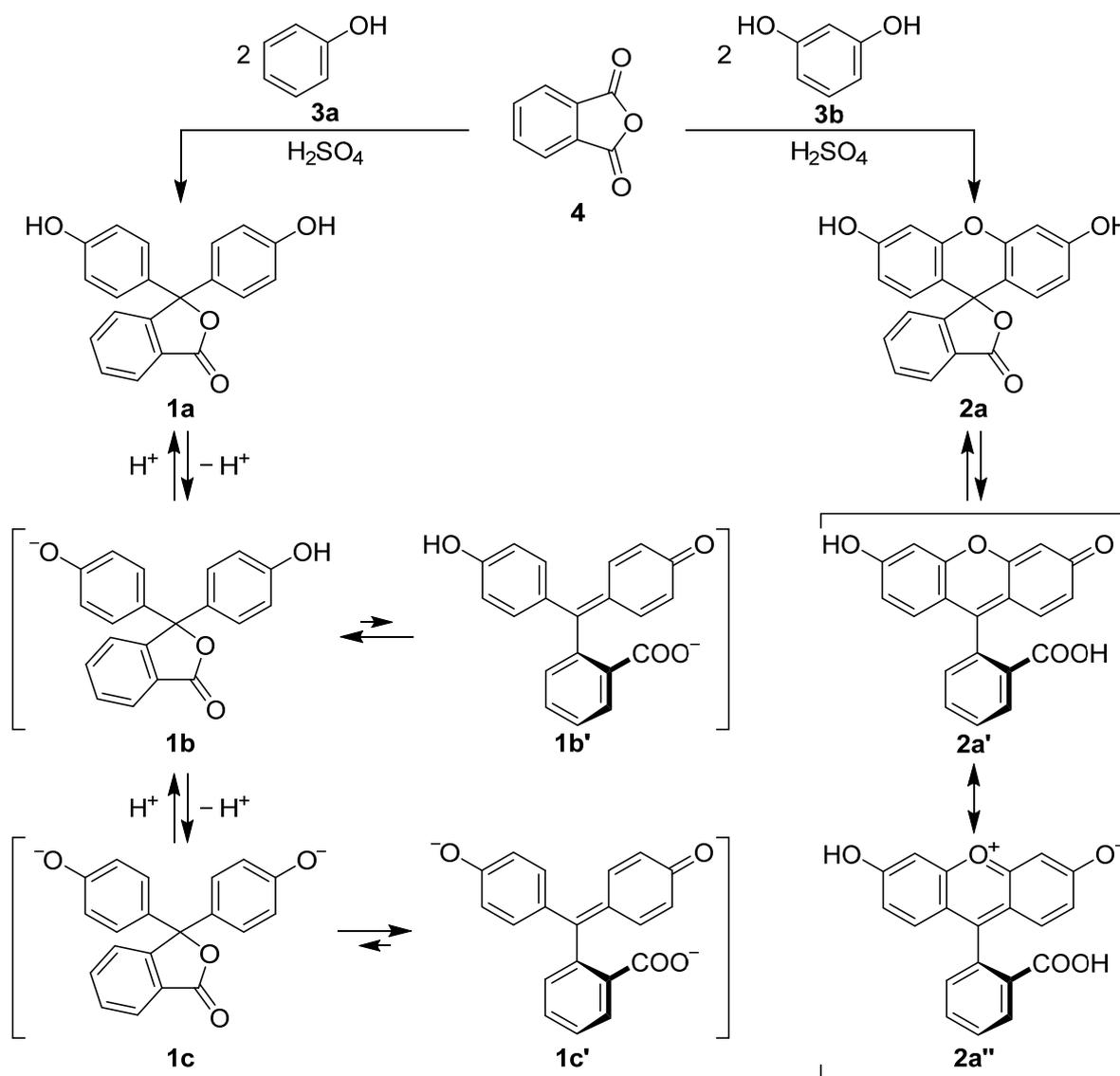
[¶] 横浜国立大学教育学部

* 横浜創英中学高等学校

^{\$} 横浜市立笠間小学校

2. フェノールフタレイン **1a** およびフルオレセイン **2a** のハロゲン化物

フェノールフタレイン **1a** およびフルオレセイン **2a** は、1871年に A. Baeyer により、硫酸中でフェノール **3a** あるいはレゾルシノール **3b** 2分子と無水フタル酸 **4** 1分子を脱水縮合することにより得られることが報告された (Scheme 2)³。フェノールフタレイン **1a** は、酸性・中性ではラクトン環を有しており、分子構造のほぼ中央に位置する (フェノールの *p*-位に結合している) 炭素原子は、 sp^3 混成軌道をとるため、3つのベンゼン環の共鳴はそれぞれ独立しているため、無色である。水溶液がアルカリ性になり、フェノール性水酸基から水素イオンが解離するとフェノキシド **1b** が生成し、電子が移動してラクトン環が開環したカルボン酸イオン **1b'** と平衡状態になる。**1b'** の中央の炭素原子は sp^2 混成軌道をとるため、共鳴範囲が広がり、可視光領域の波長の光を吸収するためピンク色を呈するが、平衡がラクトン **1b** 側に偏っていてカルボン酸イオン **1b'** の濃度が低ければ無色に見える。なお、**1b'** の安息香酸部位のベンゼン環はカルボキシ基が置換しているため、その立体障害により他の2つのベンゼン環とは同一平面上にはなく、共役していない。さらにアルカリ性が強くなると、もう1つのフェノール性水酸基から水素イオンが解離してジフェノキシド **1c** が生成するが、ラクトン環が開環した構造をもつモノフェノキシドモノカルボン酸イオン **1c'** の方に平衡が偏っているため、濃いピンク色を呈する。その結果、フェ

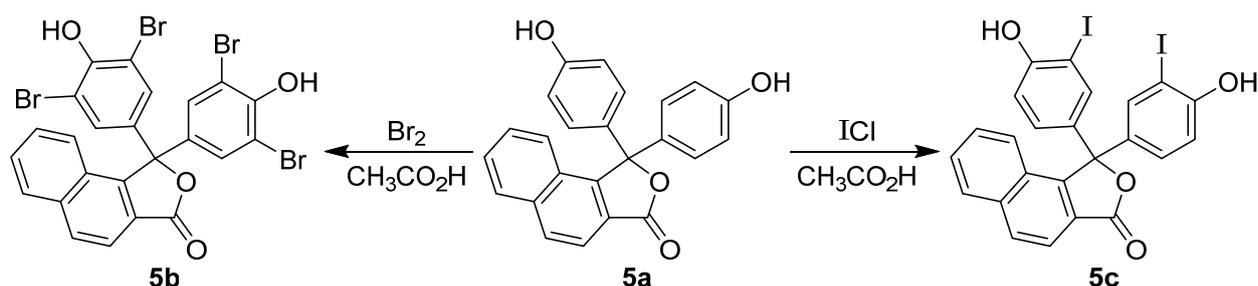


Scheme 2. Syntheses, equilibrium, and resonance structures of phenolphthalein **1a** and Fluorescein **2a**

ノールフタレイン **1a** の変色域は pH=8.2~10.0 となる。

フルオレセイン **2a** は、有機蛍光色素として広く使われており、生体への毒性も少ないことから臨床診断用色素などにもよく使われる物質である。また、フルオレセイン **2a** のラクトン環が開環した構造 **2a'** のキサントン骨格はアントラセンと同様の共鳴構造 **2a''** をもつため、ラクトン環が開環した構造をとりやすい。

フェノールフタレイン類のハロゲン化については、フェノールフタレイン誘導体 **5a** と臭素あるいは一塩化ヨウ素を酢酸溶媒中で反応させることにより、それぞれ四臭化物 **5b** と二ヨウ化物 **5c** が得られることが、2006年、M. Paola Costi らにより報告されている (Scheme 3)⁵。フルオレセイン **2a** のハロゲン化物⁶としては、着色料としても用いられているエリスロシン B (**6a**, 赤色 3号), フロキシシン B (**6b**, 赤色 104号), ローズベンガル (**6c**, 赤色 105号) などが知られている (Figure 1)⁷。



Scheme 3. Bromination and iodation of phenolphthalein derivative **5a**

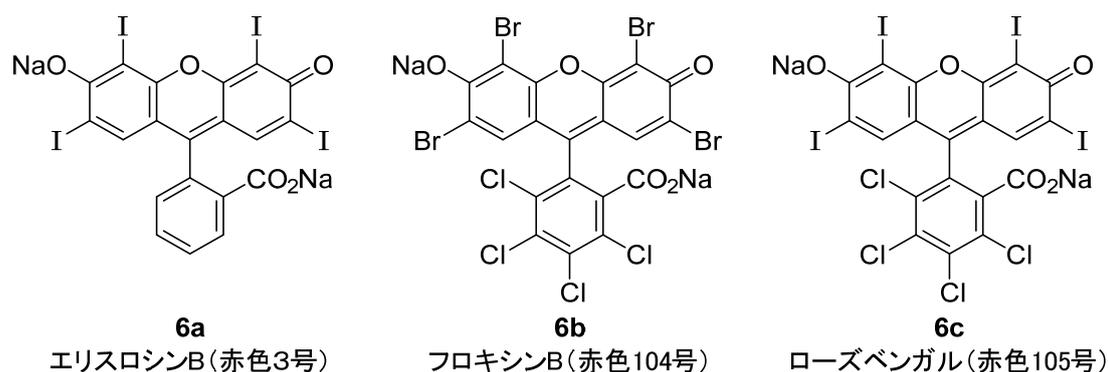


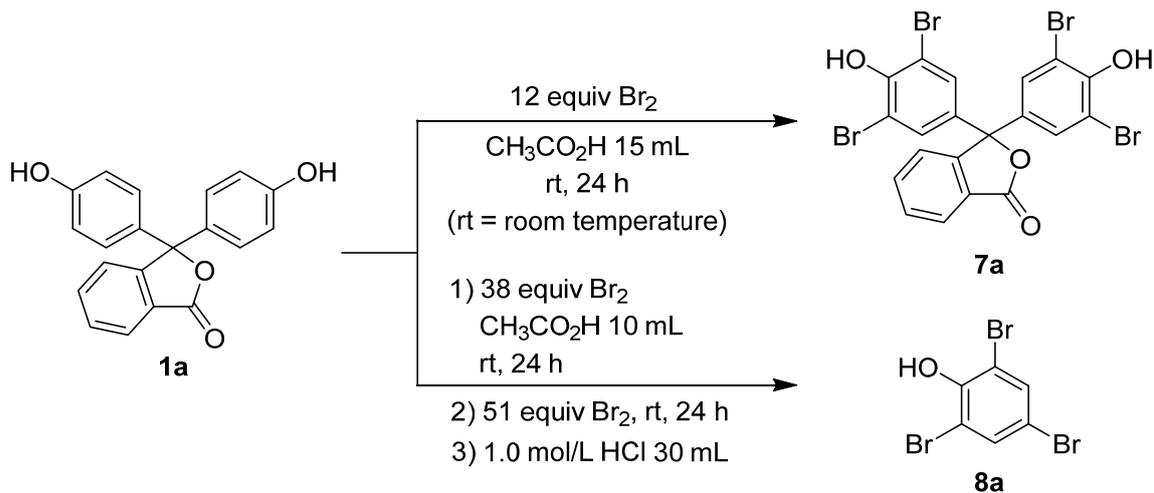
Figure 1. Fluorescein derivatives **6a-c** used for coloring agent for food

3. フェノールフタレイン **1a** のハロゲン化反応と生成物の構造

(1) フェノールフタレイン **1a** の臭素化による四臭素化物 **7a** の合成 (Scheme 4)⁸

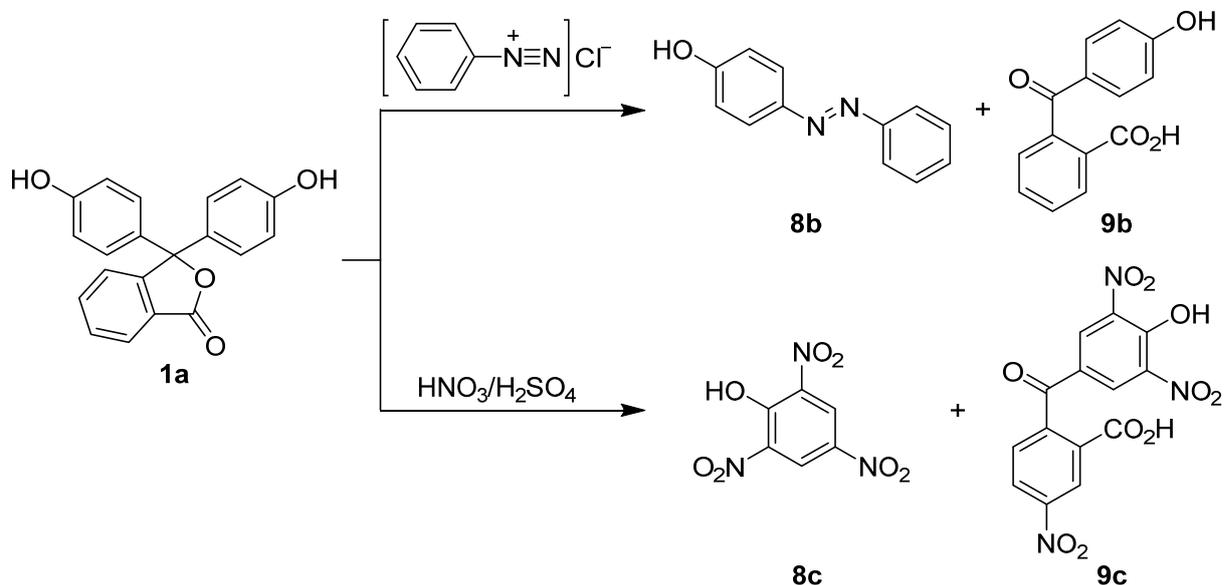
磁気回転子を入れた 100 mL ナス型フラスコに酢酸 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ 15 mL, 臭素 Br_2 0.50 mL (9.7 mmol, 12 equiv), フェノールフタレイン **1a** 0.25 g (0.78 mmol)を入れて室温で攪拌した。反応終了後、生成したクリーム色の固体をろ別し、減圧乾燥して粗生成物を得た。収量は 0.26 g (0.41 mmol), 収率は 53%であった。NMR による構造解析結果より、2つのフェノール部位のベンゼン環に臭素が各2つ置換したフェノールフタレイン四臭素化物 **7a** であると推測される (Table 1)。

同様の実験を、酢酸 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ 10 mL および臭素 Br_2 1.50 mL (29 mmol, 38 equiv)を用いて高濃度で行い、24 時間後にさらに臭素 Br_2 2.0 mL (39 mmol, 51 equiv) を追加して 24 時間反応させた。反応後に 1 mol/L 塩酸を 30 mL 加え、析出したオレンジ色固体をろ別し、減圧乾燥した。この固体は、NMR による構造解析結果より、2,4,6-トリブロモフェノール **8a** であると推測される (Table 1)。この化合物 **8a** は、フェノールフタレイン **1a** の2つのフェノール部位のベンゼン環に臭素が各2つ置換した後、ヒドロキシ基の *p*-位の C-C 結合の一方が切断されるとともに臭素が置換して生成したものと思われる。



Scheme 4. Bromination of phenolphthalein **1a**

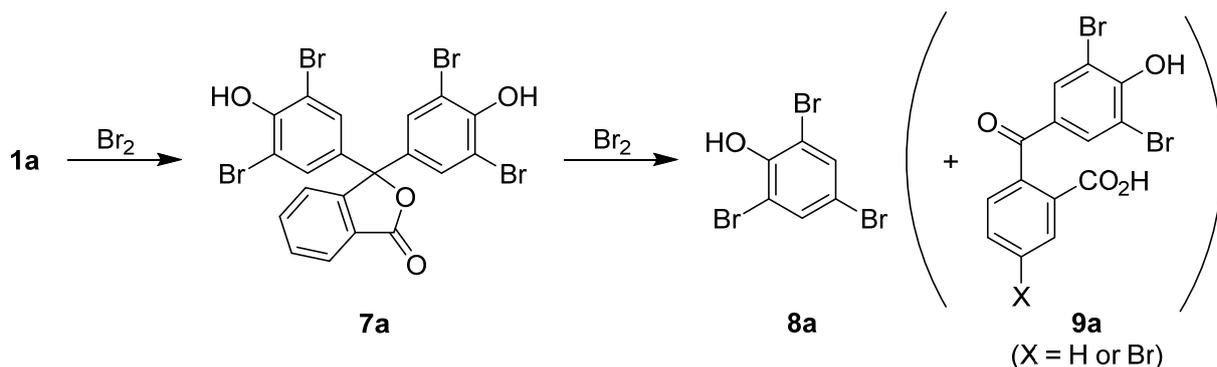
ヒドロキシ基の *p*-位の C-C 結合が切断される反応は、フェノールフタレイン **1a** とジアゾニウム塩のアゾカップリング反応⁹やニトロ化反応¹⁰においても見られ、いずれも、ヒドロキシ基の *p*-位の C-C 結合の切断とともにジアゾニウム基あるいはニトロ基が置換し、それぞれフェノール誘導体 **8b,c** とベンゾフェノン **9b,c** が生成することが知られている (Scheme 5)。したがって、フェノールフタレイン **1a** の臭素化反応においても、四臭素化物 **7a** が生成した後、**7a** が分解する、あるいは **7a** のフタリド (安息香酸環状エステル) 部位のベンゼン環が臭素化された後に分解し、トリブロモフェノール **8a** とともにベンゾフェノン **9a** が生成しているものと推測される (Scheme 6)。



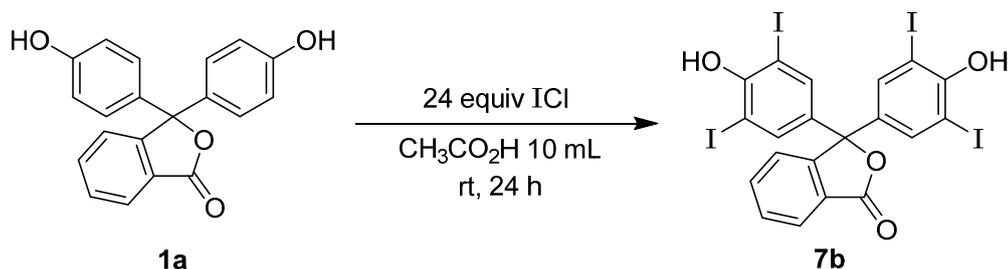
Scheme 5. Decomposition of phenolphthalein **1a** in the azo coupling reaction and in the nitration of **1a**

(2) フェノールフタレイン **1a** のヨウ素化による四ヨウ化物 **7b** の合成 (Scheme 7)

磁気回転子を入れた 100 mL ナス型フラスコに酢酸 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ 10 mL, 一塩化ヨウ素 ICl 1.0 mL (19 mmol, 24 equiv), フェノールフタレイン **1a** 0.25 g (0.78 mmol) を入れて室温で攪拌した。反応終了後、生成した茶ピンク色の固体をろ別し、ジエチルエーテル 20 mL で 3 回洗浄後、減圧乾燥して白色固体を得た。NMR



Scheme 6. Decomposition in the bromination of phenolphthalein **1a** via tetrabromide **7a**



Scheme 7. Iodation of phenolphthalein **1a**

による構造解析結果より、2つのフェノール部位のベンゼン環にヨウ素が各2つ置換したフェノールフタレイン四臭素化物 **7b** であると推測される (Table 1)。

(3) フェノールフタレイン四臭素化物 **7a** および四ヨウ化物 **7b** の構造解析

Table 1 にフェノールフタレイン **1a**, 化合物 **7a** および **7b** の NMR 分析結果を示す。フェノールフタレイン **1a** と比較すると、化合物 **7a** は、フェノールの部位のベンゼン環に結合した H に帰属されるシグ

Table 1. NMR data for phenolphthalein **1a**, compounds **7a** and **7b**^a

1a	7a	7b
7.17 (d, 4H, H-2)	7.57 (s, 4H, H-2)	7.77 (m, 4H, H-2 and H-3)
6.83 (d, 4H, H-1)		
7.89 (br d, 1H, H-6)	8.06 (dd, $J = 6.2, 2.2$ Hz, 1H, H-6)	8.03 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz, H-6)
7.79 (br t, 1H, H-4)	7.96 (dd, 1H, $J = 6.2, 2.2$ Hz, H-3)	7.98-7.89 (m, 2H, H-3 and H-4)
7.72 (br d, 1H, H-3)	7.93 (td, 1H, $J = 6.2, 2.2$ Hz, H-4)	
7.68 (br t, 1H, H-5)	7.75 (td, 1H, $J = 6.2, 2.2$ Hz, H-5)	7.75-7.70 (m, 1H, H-5)
8.51 (s, 2H, OH)	8.96 (s, 2H, OH)	8.45 (s, 2H, OH)

^a ^1H NMR (300 MHz, acetone- d_6) δ , ppm

ナルがダブルット 2 種 (各 4H) からシングレット 1 種 (4H) へと減少し、ケミカルシフトも低磁場シフトしている。また、フタリド部位のベンゼン環に結合した H に帰属されるシグナルはわずかに低磁場シフトしているが、積分値 (計 4H) やシグナルの形状には大きな変化はない。以上のことから、フェノールフタレイン **1a** の臭素化では、2つのフェノール部位のベンゼン環の各 2 水素が臭素により置換された四臭化物であると推測される。

化合物 **7b** も同様に、フェノールの部位のベンゼン環に結合した H に帰属されるシグナルがダブルット 2 種 (各 4H) から 1 種 (4H) へと減少し、ケミカルシフトも低磁場シフトしている。また、フタリド部位のベンゼン環に結合した H に帰属されるシグナルはわずかに低磁場シフトしているが、積分値 (計 4H) やシグナルの形状には大きな変化はない。以上のことから、フェノールフタレイン **1a** のヨウ素化では、2つのフェノール部位のベンゼン環の各 2 水素がヨウ素により置換された四ヨウ化物であると推測される。

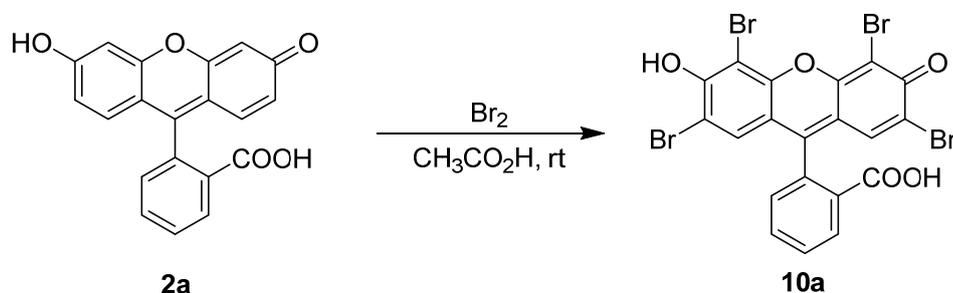
4. フルオレセイン **2a** のハロゲン化反応と生成物の構造

(1) フルオレセイン **2a** の臭素化による四臭化物 **10a** の合成 (Table 2)

磁気回転子を入れた 100 mL ナス型フラスコに酢酸 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$, 臭素 Br_2 , フルオレセイン **2a** を入れて室温で攪拌した。反応終了後、生成したオレンジ色の固体をろ別し、減圧乾燥して粗生成物を得た。反応条件、収量および収率を Table 2 に示す。NMR による構造解析結果より、臭素が 4 つ置換したフルオレセイン四臭化物 **10a** であると推測される (Table 3)。

メタノールやアセトンを溶媒として用いた場合には、臭素濃度 10% と高濃度で反応を行っても、転化率は低く、原料が多量に残った。酢酸を溶媒に用いると、臭素濃度が 3% と低くても、フェノール部位に臭素が 4 つ置換した四臭化物 **10a** が収率 66% で得られた。臭素濃度を 23% と高くすることにより、臭素がフタリド部位にも導入できないか検討したが、臭素が 5 つ以上置換した化合物は得られず、**10a** が 92% と高収率で得られた。この理由は、フェノールの水酸基は臭素化に対して活性基であるのに対し、フタリド部位のベンゼン環には不活性基であるカルボキシ基が置換しているため、臭素化されなかったと思われる。フタリド部位を臭素化するためには、ルイス酸等の触媒が必要と考えられる。また、フェノールフタレイン **1a** の臭素化では、高濃度の臭素を反応させると 2,4,6-トリブロモフェノール **8a** に分解したが (Scheme 4), フルオレセイン **2a** の場合には分解しなかった。これは、フルオレセインのキサントン骨格がアントラセンと同様の共鳴構造 **2a''** (Scheme 2) をとり、共鳴安定化されているためと思われる。

Table 2. Bromination of fluorescein **2a**



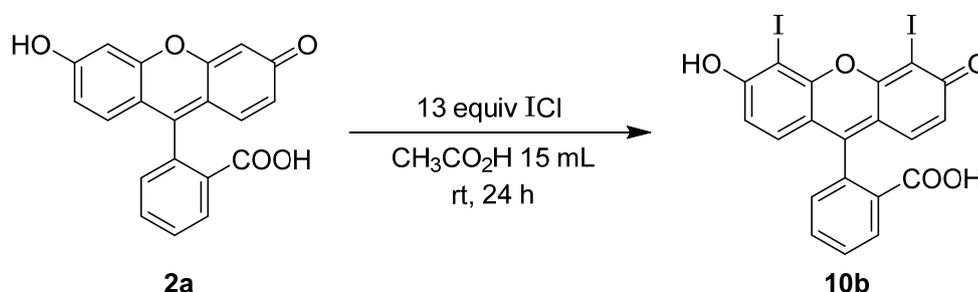
2a	Br_2	$\text{Br}_2/2\mathbf{a}$	acetic acid (mL)	concentration of Br_2	reaction time (h)	yield of 10a	yield (%)
0.25 g (0.75 mmol)	0.50 mL (9.7 mmol)	13	15	3%	24	0.32 g (0.50 mmol)	66
0.26 g (0.77 mmol)	3.0 mL (58 mmol)	75	10	23%	48	0.45 g (0.70 mmol)	92

(2) フルオレセイン **2a** のヨウ素化による二ヨウ化物 **10b** の合成 (Scheme 8)

磁気回転子を入れた 100 mL ナス型フラスコに酢酸 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ 15 mL, 一塩化ヨウ素 ICl 0.50 mL (9.5 mmol), フルオレセイン **2a** 0.25 g (0.76 mmol) を入れて室温で 24 時間攪拌した。攪拌終了後, 生成したオレンジ色の固体をろ別し, ジエチルエーテル 10 mL で 3 回洗浄して不純物を除去した後, 減圧乾燥して粗生成物を得た。収量は 0.37 g (0.63 mmol), 収率は 84%であった。NMR による構造解析結果より, ヨウ素が 2 つ置換した 4,5-ジヨードフルオレセイン **10b** であると推測される (Table 3)。

芳香族のヨウ素化は, 通常, ヨウ素 I_2 と, 過酸化水素 H_2O_2 のような酸化剤や塩化銅(II) CuSO_4 のような銅塩を加えて行う。これにより, ヨウ素は酸化されて I^+ となり求電子置換反応が起こる。一塩化ヨウ素 ICl は, I に比べ Cl のほうが電気陰性度が高いため, Cl に電子が引きつけられて I はプラスの電荷を帯びる。そのため, 酸化剤を入れなくても芳香族のヨウ素化をすることが可能である。

なお, フルオレセイン二ヨウ化物 **10b** はこれまでに合成法が報告されたことはなく, 本研究で初めて合成法を確立し, **10b** を高収率で得ることに成功した。臭素化と同様に, フルオレセイン **2a** にさらに多くのヨウ素を置換するためには, 触媒が必要であると考えられる。



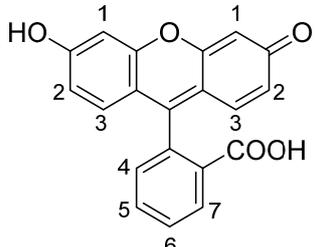
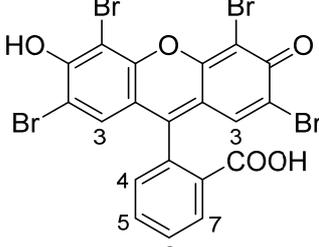
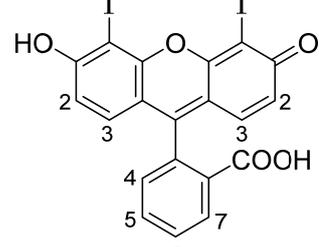
Scheme 8. Iodation of fluorescein **2a**

(3) フルオレセイン四臭化物 **10a** および二ヨウ化物 **10b** の構造解析

Table 3 にフルオレセイン **2a**, 化合物 **10a** および **10b** の NMR 分析結果を示す。フルオレセイン **2a** と比較すると, 化合物 **10a** は, フェノールの部位のベンゼン環に結合した H に帰属されるシグナルが 3 種 (各 2H) からシングレット 1 種 (2H) へと減少し, ケミカルシフトも低磁場シフトしている。また, フタリド部位のベンゼン環に結合した H に帰属されるシグナルは, わずかに低磁場シフトしているが, 積分値 (計 4H) やシグナルの形状には大きな変化はない。以上のことから, フルオレセイン **2a** の臭素化では, 2 つのフェノール部位のベンゼン環の各 2 水素が臭素により置換された四臭素化物であると推測される。

化合物 **10b** は, フェノールの部位のベンゼン環に結合した H に帰属されるシグナルが 3 種 (各 2H) からブロードなダブレット (4H) へと減少し, ケミカルシフトも低磁場シフトしている。これは, 2 種のダブレット (各 2H) が重なったシグナルと推測される。したがって, ヨウ素は酸素と結合している 2 つの炭素に挟まれた炭素に置換したと考えられる。また, フタリド部位のベンゼン環に結合した H に帰属されるシグナルは, わずかに低磁場シフトしているが, 積分値 (計 4H) やシグナルの形状には変化はない。以上のことから, フルオレセイン **2a** のヨウ素化では, 2 つのフェノール部位のベンゼン環の各 1 水素がヨウ素により置換された二ヨウ化物であると推測される。

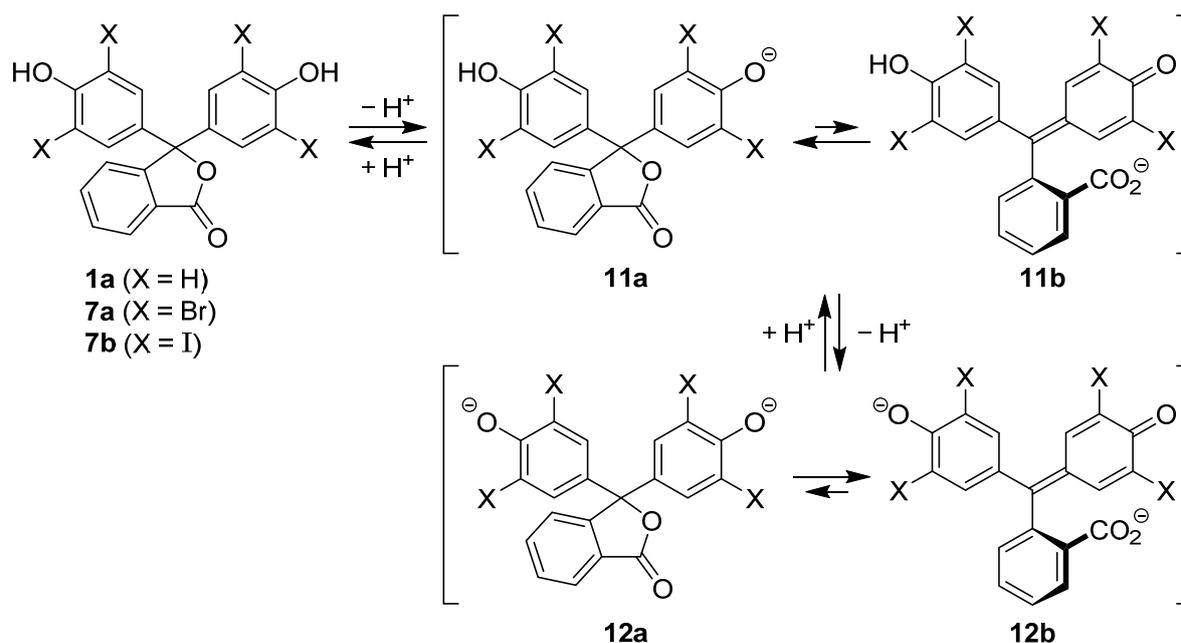
Table 3. NMR data for fluorescein **2a**, compounds **10a** and **10b**^a

2a	10a	10b
		
6.76 (d, 2H, <i>J</i> = 2 Hz, H-3)	7.07 (s, 2H, H-3)	6.88 (br d, 4H, H-2 and H-3)
6.66 (s, 2H, H-1)		
6.64 (d, 2H, <i>J</i> = 2 Hz, H-2)		
8.00 (br d, 1H, <i>J</i> = 7.5 Hz, H-7)	8.04 (br d, 1H, <i>J</i> = 7.5 Hz, H-7)	8.07 (d, 1H, <i>J</i> = 7.5 Hz, H-7)
7.83 (td, 1H, <i>J</i> = 7.5, 2.3 Hz, H-5)	7.86 (td, 1H, <i>J</i> = 7.5, 2 Hz, H-5)	7.87 (td, 1H, <i>J</i> = 7.5, 1.3 Hz, H-5)
7.77 (td, 1H, <i>J</i> = 7.5, 2.3 Hz, H-6)	7.83 (td, 1H, <i>J</i> = 7.5, 2 Hz, H-6)	7.80 (td, 1H, <i>J</i> = 7.5, 1.3 Hz, H-6)
7.30 (br d, 1H, <i>J</i> = 7.5 Hz, H-4)	7.54 (br d, 1H, <i>J</i> = 7.5 Hz, H-4)	7.54 (d, 1H, <i>J</i> = 7.5 Hz, H-4)

^a ¹H NMR (300 MHz, acetone-d₆) δ, ppm

5. フェノールフタレイン四ハロゲン化物 **7a,b** の指示薬としての有用性

フェノールフタレイン四臭化物 **7a** 水溶液および四ヨウ化物 **7b** 水溶液は、酸性・中性ではいずれも無色であり、アルカリ性ではそれぞれ紫色、青紫色を呈し、その変色域はそれぞれ pH 10.5, 10.4 であった。フェノールフタレイン **1a** と同様にアルカリ性側に変色域があることから、**Scheme 9** に示すように pH により共役系が変化すると推測される¹¹。酸性・中性条件下では、分子内にラクトン構造をもち、3つのベンゼン環が互いに共役していないため、無色である。アルカリ性になるとフェノールの水素イオンが解離してフェノキシ



Scheme 9. Equilibrium and resonance structures of phenolphthalein **2a**, tetrabromide **7a**, and tetraiodide **7b**

ドイオン **11a** が生成する。これは、ラクトン環が開環したカルボン酸イオン **11b** と平衡状態にあるが、平衡が **11a** 側に偏っていれば無色に見える。さらにアルカリ性が強くなると、ジフェノキシド **12a** が生成するが、これはラクトン環が開環したモノフェノキシドーモノカルボン酸イオン **12b** 側に平衡が偏っている。**12b** の濃度が高いほど、呈色は濃くなる。フェノールフタレイン **1a** はアルカリ性では濃いピンク色（赤色）を呈するが、四臭化物 **7a** および四ヨウ化物 **7b** の色の違いは、ハロゲンが置換したことによって吸収波長が変わったことが理由である。いずれも、明確な色変化をすることから、酸塩基指示薬として用いることが可能である。

6. まとめ

本研究では、フェノールフタレイン **1a** の臭素化およびヨウ素化を行い、フェノールフタレイン四臭化物 **7a** と四ヨウ化物 **7b** を得た。その構造は、NMR 分析により同定した。いずれも、アルカリ性側に変色域をもち、酸性・中性では無色、アルカリ性ではそれぞれ紫色、青紫色を呈するため、中和反応における酸塩基指示薬として使用することが可能である。また、フルオレセイン **2a** の臭素化およびヨウ素化を行い、フルオレセイン四臭化物 **10a** と二ヨウ素化物 **10b** を得た。それらの構造は、NMR 分析により同定した。

本研究は、酸塩基指示薬および芳香族化合物の臭素化・ヨウ素化反応を扱っており、『高等学校 化学基礎』の「酸と塩基」と『化学』の「有機化学」の範囲と関連している。フェノールフタレイン **1a** は、授業中の実験において酸塩基指示薬として用い、フルオレセイン **2a** は、蛍光色素として日常生活の中で利用されているため、生徒にとっても身近な物質である。そのような化合物を臭素化やヨウ素化という比較的わかりやすい反応を利用して新しい化合物に変換することができることや、合成した化合物を中和滴定の酸塩基指示薬として用い、フェノールフタレインとは異なる色変化で中和点を見つけることは、生徒の興味をひき、理解を深めることにつながると考える。

参考文献

- 1 西 久夫 「色素の化学」 共立出版(株), 1985; p.89.
- 2 西 久夫 「続 色素の化学」 共立出版(株), 1992; p.20.
- 3 (a) Baeyer, A. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1871**, *4*, 658; (b) Baeyer, A. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1871**, *4*, 555.
- 4 Mchedlov-Petrossyan, N. O.; kukhtik, V. I.; Bezugliy, V. D. *J. Phys. Org. Chem.* **2003**, *16*, 380.
- 5 Costi, M. P.; Gelain, A.; Barlocco, D.; Ghelli, S.; Soragni, F.; Reniero, F.; Rossi, T.; Ruberto, A.; Guillou, C.; Cavazzuti, A.; Casolari, C.; Ferrari, S. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 5958.
- 6 (a) Sun, W.-C.; Gee, K. R.; Klaubert, D. H.; Haugland, R. P. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6469; (b) Jiao, G.-S.; Han, J. W.; Burgess, K. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 8264.
- 7 片山 脩 *有機合成化学協会誌* **1974**, *32*, 620.
- 8 Tamura, Z.; Terada, R.; Ohno, M. Maeda, M. *Anal. Sci.* **1999**, *15*, 339.
- 9 Ziegler, E.; Topper, H.; Sobotka, M. *Scientia Pharmaceutica* **1951**, *19*, 21.
- 10 根岸 唯, 川原田 文, 鈴木 俊彰 *横浜国立大学教育学部紀要IV, 自然科学* **2018**, *1*, 20.
- 11 田村 善藏 *ぶんせき* **2005**, *10*, 557.