フェノールフタレインとフルオレセインのニトロ化による新しい酸塩基指示薬の合成

根岸　唯[†,*]・川原田　文[‡,$]・鈴木　俊彰[†,‡,⁋]

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

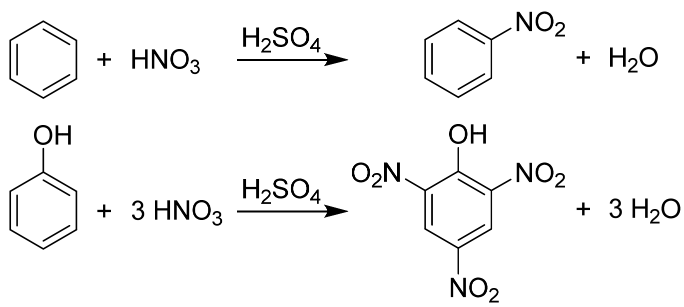
Yui NEGISHI, Aya KAWARADA, Toshiaki SUZUKI

Abstract:

Fluorescein was nitrated in the mixture of fuming nitric acid and conc. sulfuric acid to give pentanitrofluorescein, which was separated in first time and exhibits yellow under pH 1, orange under pH 2-3, reddish violet under pH 4-12, and purple under pH 13-14. On the other hand, the reaction of fluorescein with conc. nitric acid in conc. sulfuric acid gave the mixture of di-, tri-, and pentanitrofluoresceins. The nitration of phenolphthalein in conc. nitric acid and sulfuric acid was led to the decomposition to picric acid and benzophenone derivatives.

１．はじめに

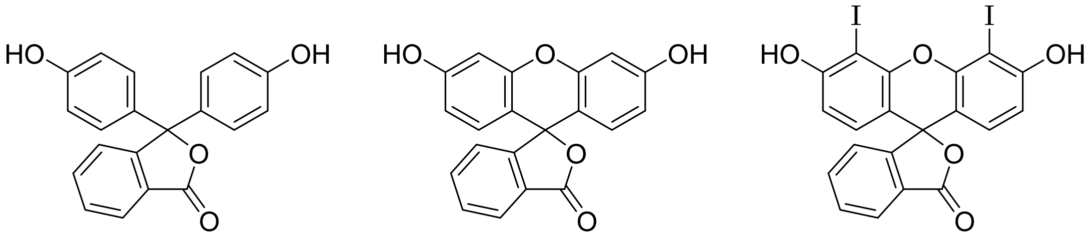
『高等学校　化学』では，「芳香族化合物」の単元においてベンゼン環のニトロ化反応について学ぶ。例えば **Scheme 1** に示すように，ベンゼン C_6H_6 は硝酸 HNO_3 と硫酸 H_2SO_4 の混酸を作用させると，ベンゼンの水素原子がニトロ基で置換され，ニトロベンゼンを生じる。一方，フェノールはベンゼンより置換反応を受けやすく，硝酸 HNO_3 と硫酸 H_2SO_4 の混酸を加えて加熱すると，最終的にベンゼン環の *o*-位や *p*-位がすべてニトロ化されて，2,4,6-トリニトロフェノール（ピクリン酸）が生成する。



Scheme 1. Nitration 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**，フルオレセイン二ヨウ化物 **2b**（**Figure 1**）[3]のニトロ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，蛍光特性にについて検討することとした。

† 横浜国立大学教育人間科学部　‡ 横浜国立大学教育学研究科　⁋ 横浜国立大学教育学部
* 横浜市立笠間小学校　$ 横浜創英中学高等学校



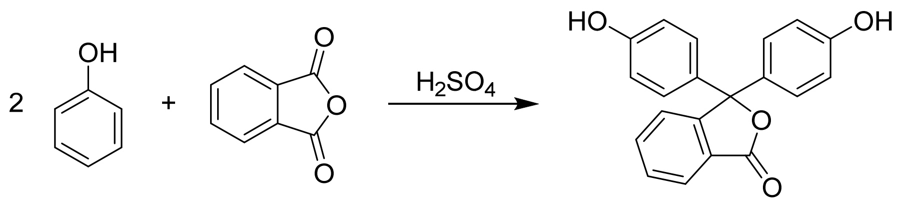
1a　　2a　　2b

Figure 1. Phenolphthalein **1a**, fluorescein **2a**, and fluorescein diiodide **2b**

２．フェノールフタレイン 1a およびそのニトロ化反応

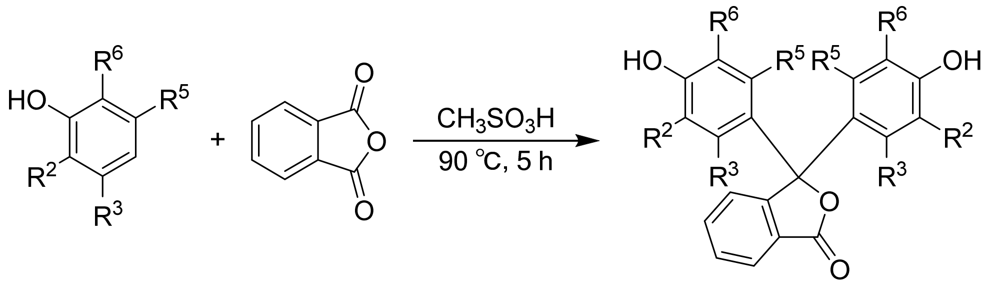
（1）フェノールフタレイン **1a** およびその誘導体の合成法

フェノールフタレイン **1a** は 1871 年に A. Baeyer により，硫酸を用いてフェノール **3a** ２分子と無水フタル酸 **4a** １分子から水２分子を脱水して縮合させることにより得られることが報告された（**Scheme 2**）[4]。ベンゼン環に置換基をもつフェノールフタレイン誘導体 **1** を合成するには，①フェノール誘導体 **2** と無水フタル酸誘導体 **3** を酸触媒存在下で縮合する方法[5]と，②フェノールフタレイン **1a** に置換基を直接導入する方法がある。①についてはこれまでにも，酸触媒として硫酸，ポリリン酸，塩化アルミニウムなどを用いた合成法が報告されているが，副生物の生成や低収率という問題があった。そのような中，R. W. Sabnis は 2009 年にメタンスルホン酸 CH_3SO_3H 中でフェノール誘導体 **3** と無水フタル酸 **4a** を反応させることにより，フェノールフタレイン誘導体 **1** を高収率で得ることに成功した（**Scheme 3**）[6]。また，生成物は，酸性・中性条件下では無色であり，アルカリ性条件下では赤，ピンク，マゼンタ，紫，すみれ，青など，化合物により様々な色を呈する。



3a　　4a　　1a

Scheme 2. Synthesis of phenolphthalein **1a**

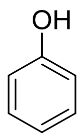
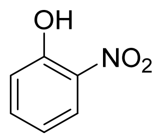
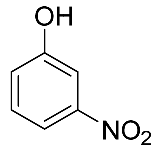
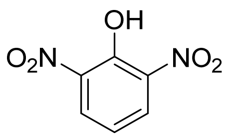
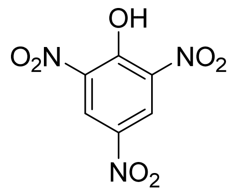


3　　4a　　1

(R^2 = H, CH_3, C_2H_5, $(CH_3)_2CH$, $C_2H_5CH(CH_3)$, OCH_3, C_6H_5
R^3, R^5, R^6 = H, CH_3, $(CH_3)_2CH$)　73-94%

Scheme 3. Syntheses of phenolphthalein derivatives **1** possessing substituents on benzene rings of phenols

Table 1. pK_a values of phenol and nitrated phenols[7]

				
9.89	7.17	8.28	3.70	0.38

しかし，ニトロ基をもつフェノールフタレインを①の方法で合成するのは困難である。ニトロ基は電子求引性置換基であるため，ニトロ基の置換したフェノールの pK_a 値は小さい（**Table 1**）。このことからも明らかなように，電子求引性基であるニトロ基の置換によりフェノールベンゼン環の電子密度が減少し求核性が低下するため，無水フタル酸 **4** への求核付加反応が阻害されるからである。そこで，本研究では，②の方法によりフェノールフタレイン **1a** にニトロ基を直接導入し，新しい酸塩基指示薬を合成することを検討した。フェノールフタレイン **1a** を直接ニトロ化することができれば簡易な合成法にもなり得る。

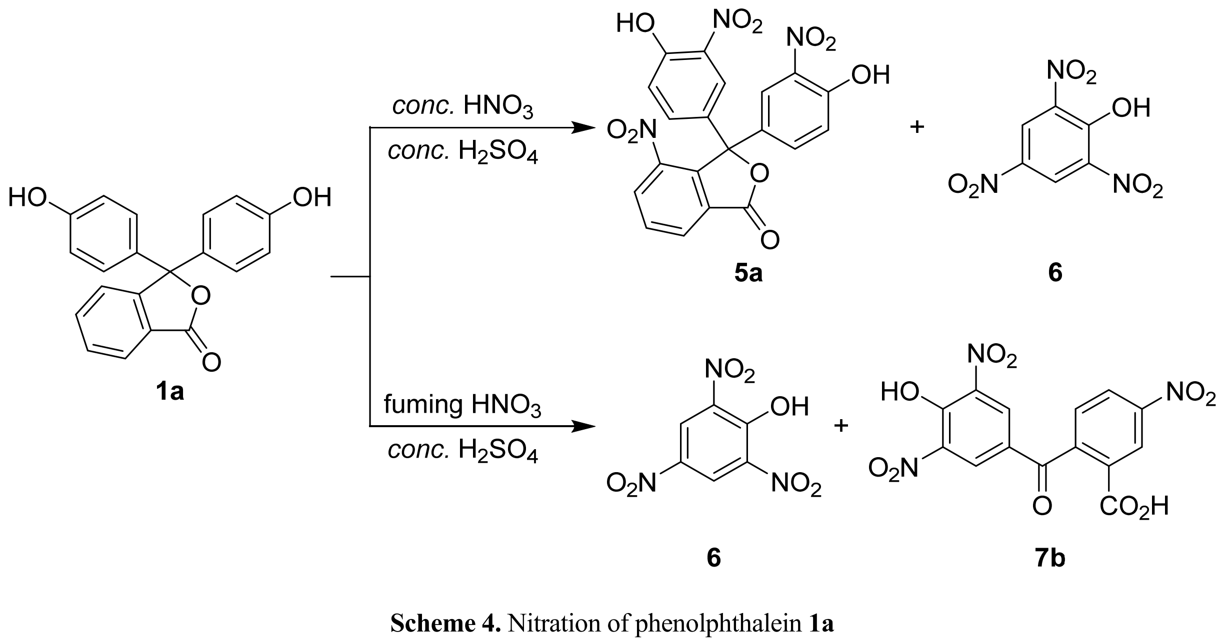
（２）フェノールフタレイン **1a** のニトロ化 **(Scheme 4)**

（２－１）フェノールフタレイン **1a** と混酸（濃硝酸・濃硫酸）の反応

磁気回転子を入れた 100 mL 三角フラスコにフェノールフタレイン **1a** 0.64 g (2.0 mmol)を入れ，混酸（濃硝酸：濃硫酸 ＝ 3：1）40 mL を撹拌しながら少しずつ加えた。室温で 24 時間攪拌した後，水 100 mL を加えた。ジエチルエーテル 140 mL を加えて有機物を抽出した後，ロータリーエバポレーターを用いてジエチルエーテルおよび軽沸物を留去すると，ややべたついた黄色固体が残った。減圧乾燥後の黄色固体の質量は 1.50 g であった。NMR による構造解析の結果から，その主成分は，ニトロ基が２つのフェノールのベンゼン環各１つ，フタリド（安息香酸環状エステル）のベンゼン環の 3-位に１つ置換したフェノールフタレイン三ニトロ化物 **5a** であると推測した（**Table 2**）。また，再結晶による単離はできなかったが，その過程でピクリン酸 **6** も生成していることが分かった。

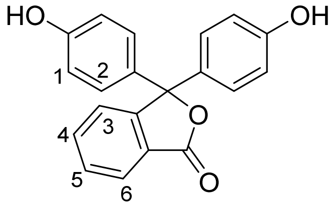
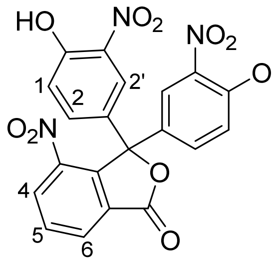
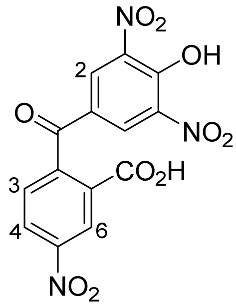
（２－２）フェノールフタレイン **1a** と混酸（発煙硝酸・濃硫酸）の反応

磁気回転子を入れた 100 mL ナス型フラスコに硫酸 16 mL，発煙硝酸 4 mL を入れ，フェノールフタレ



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

Table 2. NMR data for phenolphthalein **1a**, trinitrophenolphthalein **5a**, and benzophenone derivative **7b**[a]

1a	**5a**	**7b**
		
7.17 (d, 4H, H-2)	8.59 (d, 2H, *J* = 2 Hz, H-2')	8.69 (s, 2H, H-2)
	8.49 (dd, 2H, *J* = 8.3, 2 Hz, H-2)	
6.83 (d, 4H, H-1)	8.00 (d, 2H, *J* = 8.3 Hz, H-1)	
7.89 (br d, 1H, H-6)	8.67 (dd, 1H, *J* = 8.3, 2 Hz, H-6)	8.57 (d, 1H, *J* = 2.3 Hz, H-6)
7.79 (br t, 1H, H-4)	8.37 (dd, 1H, *J* = 8.3, 2 Hz, H-4)	8.52 (dd, 1H, *J* = 8.3, 2.3 Hz, H-4)
7.72 (br d, 1H, H-3)		8.02 (d, 1H, *J* = 8.3 Hz, H-3)
7.68 (br t, 1H, H-5)	7.87 (t, 1H, *J* = 8.3 Hz, H-5)	
8.51 (s, 2H, OH)	8.61 (s, 2H, OH)	8.45 (s, 2H, OH)

[a] ^{1}H NMR (300 MHz, acetone-d_6) δ, ppm

イン **1a** 0.50 g (1.6 mmol)を加えて室温で 24 時間攪拌した。反応終了後，氷水バスに浸して冷却し，水 40 mL を加えた。生成した黄色固体 A を吸引ろ過によりろ別した。ろ液から，有機物をジエチルエーテル 40 mL で 2 回抽出し，抽出液を水 10 mL および飽和食塩水 10 mL で洗浄した。ロータリーエバポレーターを用いて軽沸物を留去し，減圧乾燥すると黄色固体 B が得られた。NMR による構造解析結果の結果，黄色固体 A はピクリン酸 **4**，黄色固体 B はベンゾフェノン誘導体 **7b** であることが分かった (**Table 2**)。

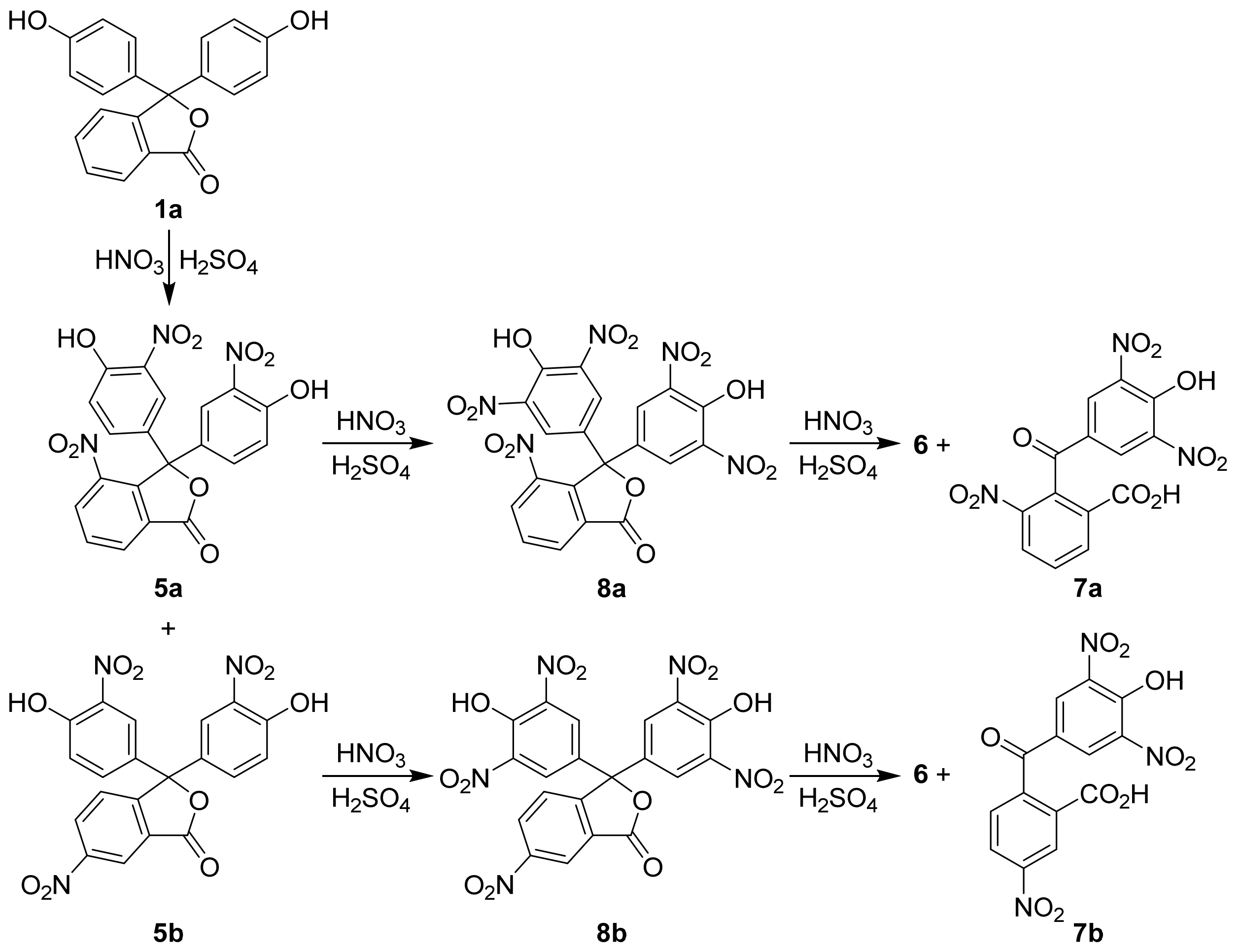
（3）フェノールフタレイン **1a** のニトロ化生成物の構造解析

Table 2 にフェノールフタレイン **1a** と化合物 **5a** 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 **5a** は，フェノール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レット 2 種（各 4H）から 3 種（各 2H）へと増え，積分値は 8H から 6H へと減少し，ケミカルシフトも δ 8.59–8.00 ppm へと大きく低磁場シフトしている。これは，電子求引性基であるニトロ基が各１つ置換したためと考えられる。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 4 種（計 4H）から 3 種（計 3H）へと減少し，低磁場シフトしている。また，シグナルの形状とカップリング定数は，３つの水素がベンゼン環の連続した３つの炭素に結合していることを示している。以上のことから，化合物 **5a** は，２つのフェノール部位のベンゼン環の各 1 水素とフタリド部位のベンゼン環の 1 水素がニトロ基により置換された三ニトロ化物であると推測される。

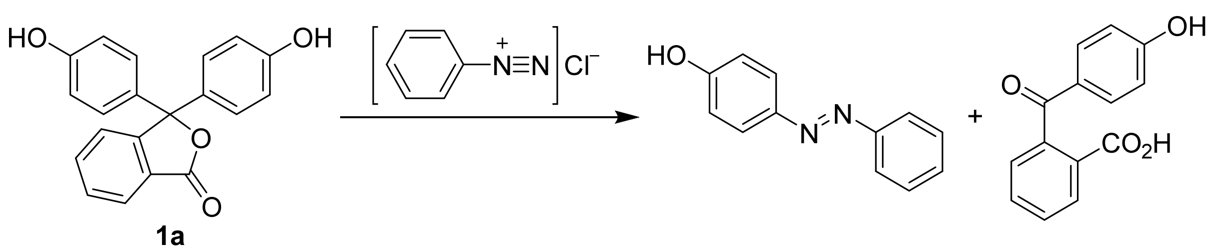
化合物 **7b** は，フェノール部位のベンゼン環に結合した H に帰属されるシグナルはシングレット 1 種（2H）であり，ケミカルシフトも δ 8.69 ppm と大きく低磁場シフトしている。これは，ニトロ基が２つ置換し，対称に位置する水素が２つだけ残っていることを示す。また，安息香酸部位のベンゼン環に結合した H に帰属されるシグナルは 4 種（計 4H）から 3 種（計 3H）へと減少し，低磁場シフトしている。さらに，シグナルの形状とカップリング定数は，隣接する２つの炭素と，１つの炭素を挟んで位置する炭素の３カ所に水素が結合していることを示している。以上のことから，化合物 **7b** は 4-hydroxy-3,5-dinitrophenyl 2-hydroxycarbonyl-4-nitrophenyl ketone と推測される。

（4）フェノールフタレイン **1a** のニトロ化および分解の機構

これらの実験結果については，**Scheme 5** に示すように考えられる。フェノールフタレイン **1a** は３つのベンゼン環をもつ。その内２つは水酸基により活性化されており，残りの１つはカルボニル基により不活性化されている。そのため，まず，２つのフェノール部位のベンゼン環の *o*-位が置換され，二置換体が生成する。ニトロ基の置換によってベンゼン環の電子密度が低下するため，３つ目のニトロ基はフタリド部位のベンゼン環のカルボニル基の *m*-位が置換され，三ニトロ化物 **5a** および **5b** が生成する（**5a** の生成は NMR により確認されている）。**5a** および **5b** がさらにニトロ化されると五ニトロ化物 **8a** および **8b** が生成するが，２つのニトロ基が置換したことによってフェノール部位とそのヒドロキシ基の *p*-位に結合した炭素の結合が弱まるため，さらなるニトロ化と分解が起こり，ピクリン酸 **6** とベンゾフェノン誘導体 **7a** および **7b** が生成すると推測される（**7b** の生成は NMR により確認されている）。このよ



Scheme 5. Nitration and decomposition of phenolphthalein **1a**



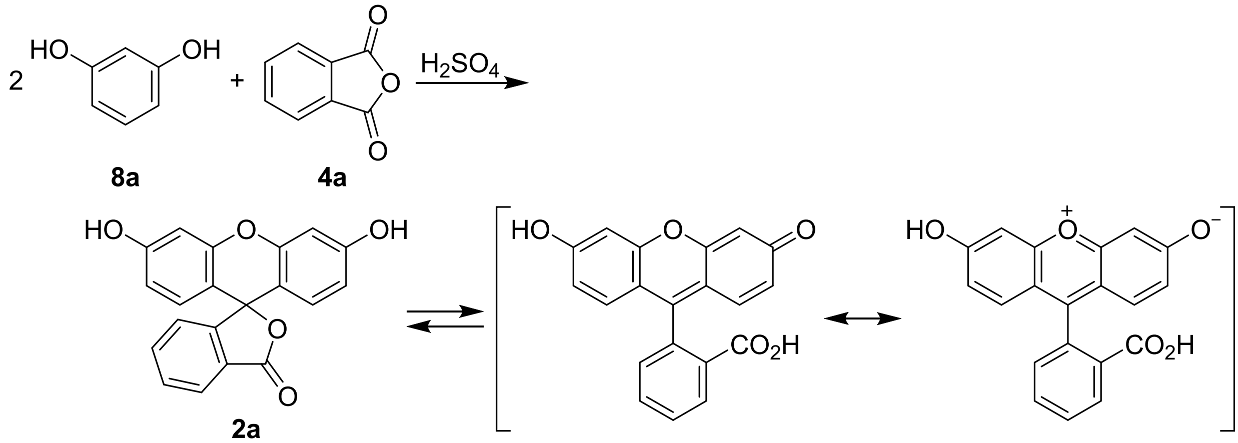
Scheme 6. Decomposition in the reaction of phenolphthalein **1a** with diazonium salt

うなフェノールフタレイン **1a** の分解反応は，アゾカップリング反応においても見られ，報告されている (**Scheme 6**)[8] 。

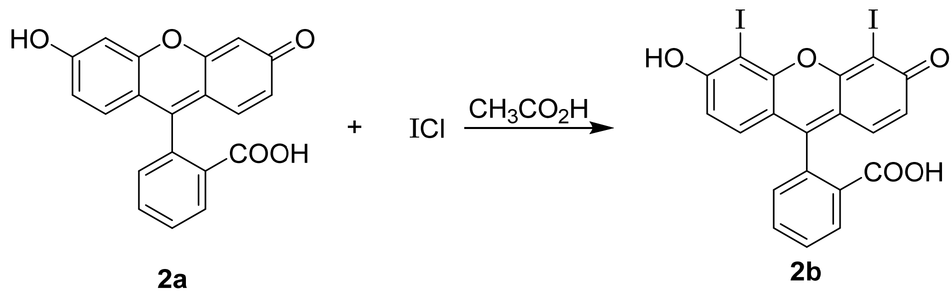
３．フルオレセイン 2a,b およびそのニトロ化反応

（１）フルオレセイン **2a,b** およびそのニトロ化物

フルオレセイン **2a** は 1871 年に A. Baeyer により，硫酸を用いてレゾルシノール **8a** ２分子と無水フタル酸 **4a** １分子から水２分子を脱水して縮合させることにより得られることが報告された（**Scheme 7**）[9]。フルオレセイン **2a** は，ラクトン部位が開環するとアントラセンと同様の共鳴構造をもつ。また，フルオレセイン **2a** を一塩化ヨウ素を用いてヨウ素化すると，フルオレセイン二ヨウ化物 **2b** が得られる（**Scheme 8**）[3]。ニトロ基が置換したフルオレセインは，四ニトロ化物 **9a** および二臭化二ニトロ化物 **9b**（**Figure 2**）がに報告されているが[10]，化合物の光物性[11]については研究されているものの，指示薬としての有用



Scheme 7. Synthesis of fluorescein **2a**



Scheme 8. Synthesis of fluorescein diiodide **2b** by the reaction of **2a** and iodine monochloride[3]

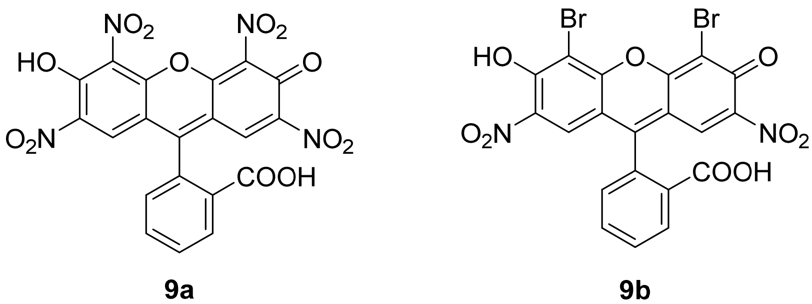


Figure 2. Reported nitrated compounds of fluorescein **9a,b**

性などについては報告されていない。

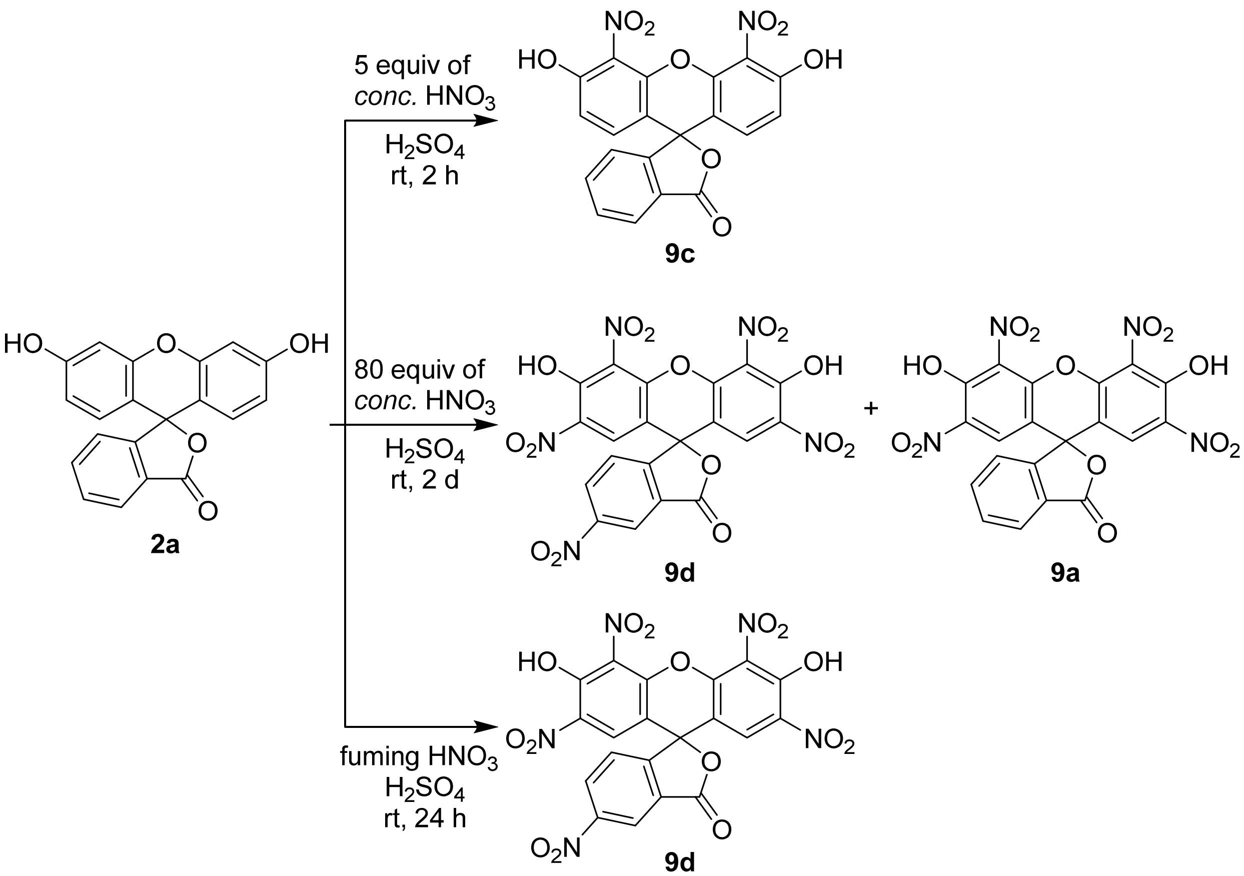
（２）フルオレセイン **2a,b** のニトロ化 (**Scheme 9**)

（２－１）フルオレセイン **2a** と５当量の混酸（濃硝酸・濃硫酸）の反応

フルオレセイン **2a** 0.67 g ($2.0×10^{-3}$ mol)を濃硫酸 10 mL を少しずつ加えて溶かし，次いで混酸（濃硫酸：濃硝酸 =1：1）1.4 mL を加え，室温で 2 時間撹拌した。反応終了後，水 20 mL を加えると，黄色固体が析出した。黄色固体をろ別した後，水で洗浄した。黄色固体に水およびジエチルエーテルを加え，エーテル抽出した。エーテル層はロータリーエバポレーターを用いて軽沸物を留去し，減圧乾燥すると黄色固体 0.91 g が得られた。アセトン／ヘキサンで再結晶を行い，収率 84%で黄色固体を得た。NMR による構造解析の結果から，黄色固体はフルオレセイン二ニトロ化物 **9c** であることが分かった（**Table 3**）。

（２－２）フルオレセイン **2a** と約 80 当量の混酸（濃硝酸・濃硫酸）の反応

磁気回転子を入れた 300 mL 三角フラスコにフルオレセイン **2a** 0.67 g ($2.0×10^{-3}$ mol)を入れ，撹拌しながら濃硝酸 10 mL を少しずつ加えた。次いで濃硫酸 30 mL を少しずつ加え，室温で 2 日間撹拌し続けた。反応終了後，水 100 mL を加えると，黄色固体が析出した。黄色固体をろ別した後，水で数回洗浄した。黄色固体に水 50 mL およびジエチルエーテル 50 mL を加え，エーテル層，水層，不溶の黄色固体 A に分け，黄色固体 A は減圧乾燥した。エーテル層はロータリーエバポレーターをもちいて軽沸物を留去し，減圧乾燥すると黄色固体 B が残った。NMR による構造解析の結果から，黄色固体 A はフルオレセイン五ニトロ化物 **9d**，黄色固体 B は四ニトロ化物 **9a** と五ニトロ化物 **9d** の混合物であることが分かった（**Table 3**）。黄色固体 A および B の収量は，それぞれ 0.44 g ($8.6×10^{-4}$ mol, 43% yield)，0.18 g であった。



Scheme 9. Nitration of fluorescein **2a**

（２－３）フルオレセイン **2a** と混酸（発煙硝酸・濃硫酸）の反応

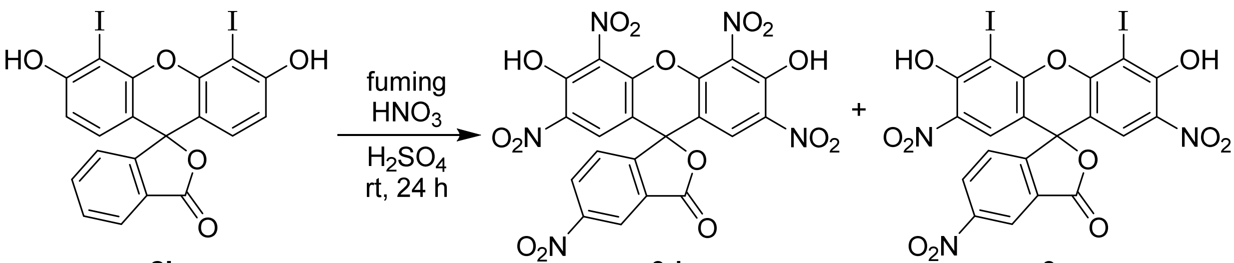
磁気回転子を入れた 100 mL ナスフラスコに硫酸 45 mL，発煙硝酸 15 mL を入れ，フルオレセイン **2a** 0.50 g (1.5 mmol)を加えて室温で 24 時間撹拌した。反応終了後，氷水バスに浸して冷却し，水 100 mL を加えると，固体が析出した。吸引ろ過によりろ別し，ジエチルエーテルで洗浄して不純物を除去し，残った薄いピンク色の固体を減圧乾燥した。NMR による構造解析の結果から，この固体はフルオレセイン五ニトロ化物 **9d** であることが分かった（**Table 3**）。収量は，0.68 g (1.2 mmol)，収率は 81%であった。

フェノールフタレイン **1a** のニトロ化反応では，五ニトロ化物は得られず，ピクリン酸 **6** とベンゾフェノン誘導体 **7a,b** に分解したが，フルオレセイン **2a** のニトロ化では，五ニトロ化物が高収率で得られた。この理由は，フルオレセイン **2a** のキサンテン骨格がアントラセンと同様の電子配置をとるため安定であり，分子のほぼ中央のスピロ炭素とフェノールのヒドロキシ基の *p*-位の C–C 結合が切断されにくいためと思われる。

（２－４）フルオレセイン二ヨウ化物 **2b** と混酸（濃硝酸・濃硫酸）の反応（**Scheme 10**）

磁気回転子を入れた 100 mL ナスフラスコに硫酸 45 mL，発煙硝酸 15 mL を入れ，フルオレセイン２ヨウ化物 **2b** を 0.050 g (0.086 mmol) を加えて室温で 24 時間撹拌した。反応終了後，氷水バスに浸して冷却し，水 50 mL を加えた。その後，ジエチルエーテル 20 mL で抽出をし，エーテル層を水 15 mL，飽和食塩水 15 mL で順に洗浄を行った。このエーテル溶液を，ロータリーエバポレーターを用いて濃縮し，減圧乾燥することにより黄色の粗生成物 0.052 g を得た。NMR による構造解析の結果から，フルオレセイン五ニトロ化物 **9d** とフルオレセイン二ヨウ化三ニトロ化物 **9e** と推測される（**Table 3**）。

この反応では，まずニトロ基が３つ置換した化合物 **9e** が生成し，その後，ヨウ素がニトロ基に置換されて五ニトロ化物 **9d** が生成したと考えられる。ニトロ化試薬として，発煙硝酸と硫酸の混酸を用いているが，この混酸は強力なニトロ化試薬であり，酸化力もある。ヒドロキシ基の *o*-位は，ニトロ化のような求電子置換反応では活性化されており，ヨウ素が酸化されたために求電子置換反応を受けやすくなり，ヨウ素がニトロ基に置換されたと考えられるが，詳細は不明である。



2b **9d** **9e**

Scheme 10. Nitration of fluorescein diiodide **2b**

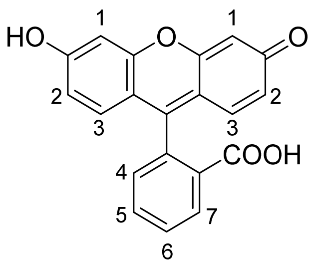
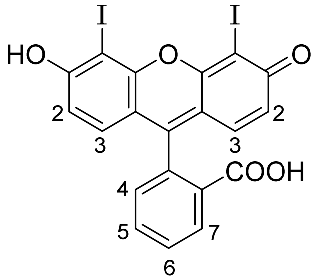
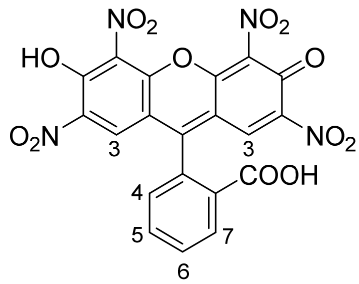
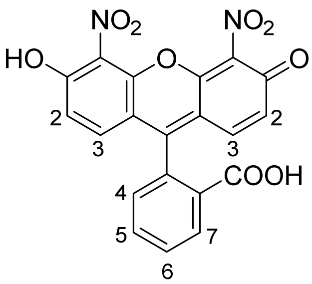
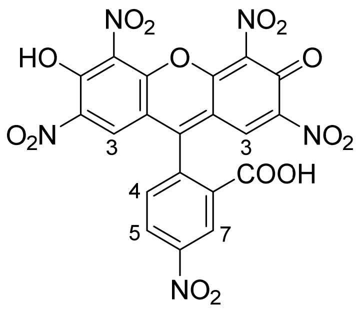
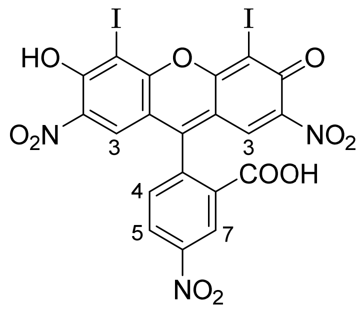
（３）フルオレセイン **2a** およびフルオレセイン二ヨウ化物 **2b** のニトロ化生成物の構造解析

Table 3 にフルオレセイン **2a**，その二ヨウ化物 **2b**，および化合物 **9a,c–e** の NMR 分析結果を示す。化合物 **9a** は，フルオレセイン **2a** と比較すると，フェノール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δ 6.76–6.64 ppm からδ 7.96 ppm へと大きく低磁場シフトしている。これは，電子求引性基であるニトロ基が各２つ置換したためと考えられる。また，安息香酸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，化合物 **9a** は，２つのフェノール部位のベンゼン環の各 2 水素がニトロ基により置換された四ニトロ化物であると推測される。

化合物 **9c** は，フェノール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 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。このシグナルは，2 種のダブレット（各 2H）が重なったシグナルと推測できる。これは，電子求引性基であるニトロ基が各１つ置換したためと考えられる。また，安息香酸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 (4H) やシグナルの形状には変化はない。以上のことから，化合物 **9a** は，２つのフェノール部位のベンゼン環の各 1 水素がニトロ基により置換された二ニトロ化物であると推測される。

化合物 **9d** は，フェノール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δ 8.14 ppm へと大きく低磁場シフトしている。これは，電子求引性基であるニトロ基が各２つ置換したためと考えられる。また，安息香酸部位のベン

Table 3. NMR data for fluoresceins **2a,b** and nitrated compounds **9a,c–e**[a]

2a	**2b**	**9a**
		
6.76 (d, 2H, J = 2 Hz, H-3) 6.66 (s, 2H, H-1) 6.64 (d, 2H, J = 2 Hz, H-2)	6.88 (br d, 4H, H-2 and H-3)	7.96 (s, 2H, H-3)
8.00 (br d, 1H, J = 7.5 Hz, H-7) 7.83 (td, 1H, J = 7.5, 2.3 Hz, H-5) 7.77 (td, 1H, J = 7.5, 2.3 Hz, H-6) 7.30 (br d, 1H, J = 7.5 Hz, H-4)	8.07 (d, 1H, J = 7.5 Hz, H-7) 7.87 (td, 1H, J = 7.5, 1.3 Hz, H-5) 7.80 (td, 1H, J = 7.5, 1.3 Hz, H-6) 7.54 (d, 1H, J = 7.5 Hz, H-4)	8.15 (br d, 1H, H-7) 7.95–7.86 (m, 2H, H-5 and H-6) 7.76 (br d, 1H, J = 6.8 Hz, H-4)
9c	**9d**	**9e**
		
6.98 (br d, 4H, H-2 and H-3)	8.14 (s, 2H, H-3)	7.96 (s, 2H, H-3)
8.02 (br d, 1H, J = 6 Hz, H-7) 7.89 (td, 1H, J = 6, 2 Hz, H-5) 7.84 (td, 1H, J = 6, 2 Hz, H-6) 7.61 (br d, 1H, J = 6 Hz, H-4)	8.82 (d, 1H, J = 1.8 Hz, H-7) 8.76 (dd, 1H, J = 8.8, 1.8 Hz, H-5) 8.12 (d, 1H, J = 8.8 Hz, H-4)	8.61 (d, 1H, J = 2.0 Hz, H-7) 8.51 (dd, 1H, J = 7.7, 2.0 Hz, H-5) 8.38 (d, 1H, J = 7.7 Hz, H-4)

[a] ^{1}H NMR (300 MHz, acetone-d_6) δ, ppm

ゼン環に結合したHに帰属されるシグナルは4種（計4H）から3種（計3H）へと減少し，低磁場シフトしている。さらに，シグナルの形状とカップリング定数は，隣接する２つの炭素と，１つの炭素を挟んで位置する炭素の３カ所に水素が結合していることが分かる。以上のことから，化合物 **9d** は，２つのフェノール部位のベンゼン環の各2水素と安息香酸部位のベンゼン環の1水素がニトロ基により置換された五ニトロ化物であると推測される。

化合物**9e**は，**2b**と比較すると，フェノール部位のベンゼン環に結合したHに帰属されるブロードなダブレット（4H）からシングレット1種（2H）へと減少し，ケミカルシフトもδ6.88 ppmからδ7.96 ppmへと大きく低磁場シフトしている。これは，電子求引性基であるニトロ基が各1つ置換したためと考えられる。また，安息香酸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4種（計4H）から3種（計3H）へと減少し，低磁場シフトしている。さらに，シグナルの形状とカップリング定数は，隣接する２つの炭素と，１つの炭素を挟んで位置する炭素の３カ所に水素が結合していることを示している。以上のことから，化合物 **9e** は，２つのフェノール部位のベンゼン環の各1水素と安息香酸部位のベンゼン環の1水素がニトロ基により置換された二ヨウ化三ニトロ化物であると推測される。

４．フルオレセイン五ニトロ化物9dの指示薬としての有用性

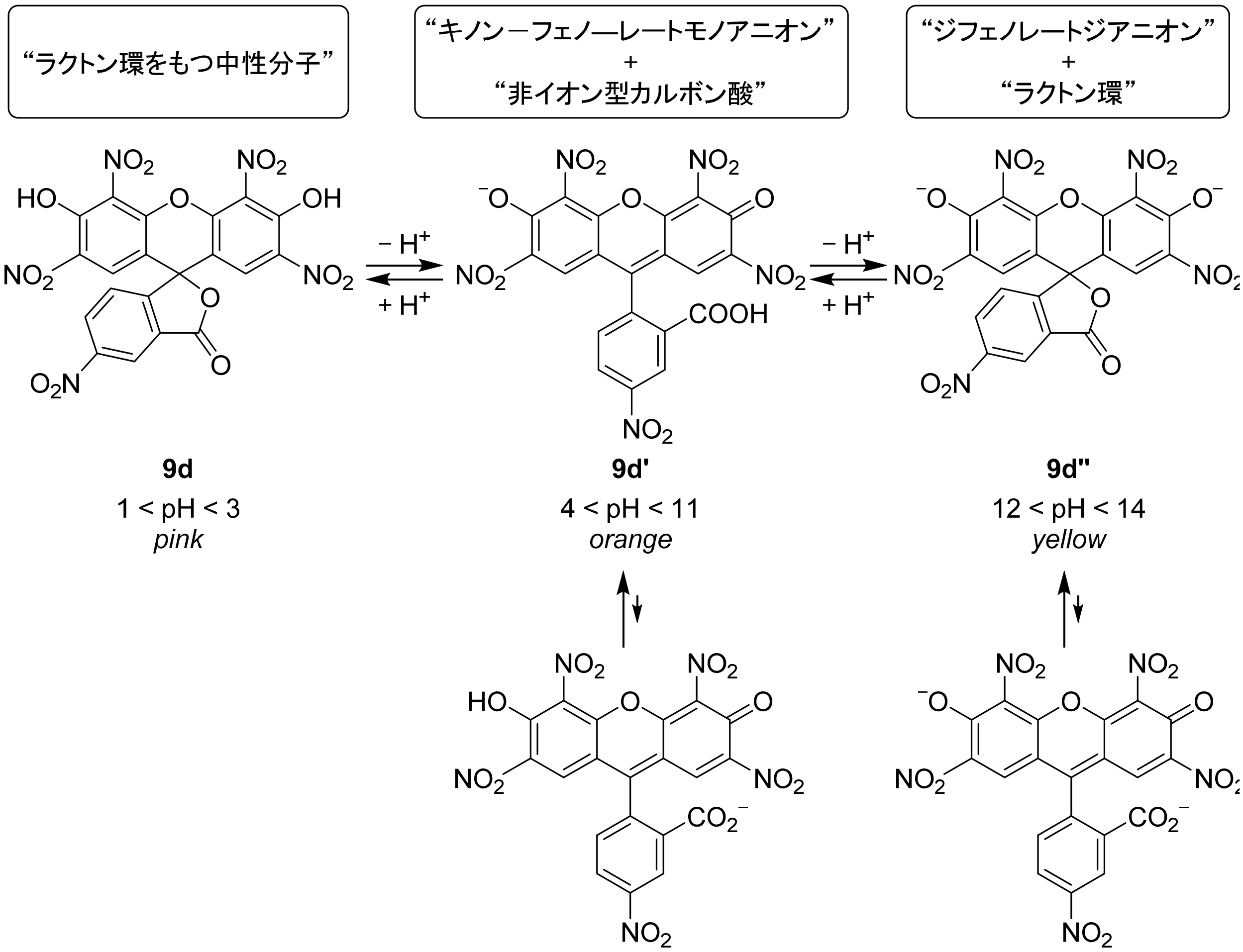
フルオレセイン誘導体は，カルボン酸型とラクトン型が平衡にある互変異性体である。無置換フルオレセイン **2a** は，中性条件下ではアントラセン類似構造により共鳴安定化されているカルボン酸型の方がラクトン型よりも安定に存在する（**Scheme 7**）。一方，ニトロ基は強い電子求引性基であるため，フェノールが酸解離して生じるフェノキシドイオンの安定化に大きな寄与をするため，ニトロフェノールの pK_a 値は無置換フェノールの pK_a に比べ，小さな値をとる（**Table 1**）。したがって，フルオレセインの五ニトロ化物**9d**は，pHによっては，ラクトン型の方が安定に存在する可能性がある。五ニトロ化物**9d**の水溶液におけるpH 1～14での色変化を調べたところ，$1 < pH < 3$ ではピンク色，$4 < pH < 11$ ではオレンジ色，$12 < pH$ では黄色となった。

無置換フルオレセイン **2a** のジアニオンは，ラクトン構造が開環して安息香酸イオンとなり，キサンテン部位は「キノン－フェノ―レートモノアニオン型」になっていることが，X染結晶構造解析によって明らかにされている[12]。一方，フルオレセイン四ニトロ化物 **9a** については，DMSO（ジメチルスルホキシド，$(CH_3)_2S{=}O$）中および90%アセトン－水混合溶媒中では，中性分子はラクトン型，モノアニオンは「キノン－フェノ―レートモノアニオン」と「非イオン型カルボン酸」，ジアニオンはラクトン環をもつジフェノレート構造をもち，「ニトロフェノレート吸収帯」により黄色を呈することが，N. O. Mchedlov-Petrossyanらにより報告されている[11]。無置換の安息香酸とフェノールを比較すると安息香酸の方が強酸性であるが，２つの*o*-位にニトロ基が置換したフェノールと１つの*m*-位にニトロ基が置換した安息香酸を比較すると，二ニトロフェノールの方が強酸性であることなどが理由として考えられる。

以上より，五ニトロ化物**9d**は，$1 < pH < 3$ ではラクトン環をもつ中性分子，$4 < pH < 11$ ではキノン－フェノ―レートモノアニオン」と「非イオン型カルボン酸」をもつモノアニオン**9d'**，$12 < pH$ ではラクトン環をもつジフェノレートジアニオン**9d"**であると考えられ（**Scheme 11**），無置換フルオレセイン**2a**とは異なる挙動をとると推測される。

５．まとめ

本研究では，フェノールフタレイン**1a**の濃硝酸・濃硫酸の混酸中でニトロ化を行い，フェノールフタレイン三ニトロ化物**5a**を得た。その構造は，NMR分析により同定した。また，発煙硝酸・濃硫酸の混酸中でニトロ化を行うことにより，さらにニトロ化を進めると，フェノールとラクトンの炭素－炭素結合が切断され，分解してピクリン酸**6**とベンゾフェノン誘導体**7b**が生成することを明らかにした。



Scheme 11. Equilibrium, and resonance structures of pentanitorofluorescein **9d**

フルオレセイン **2a** のニトロ化も行い，5 当量の濃硝酸と濃硫酸の混酸中でニトロ化を行うと，二ニトロ化物 **9c** が，80 当量の濃硝酸と濃硫酸の混酸中でニトロ化を行うと，五ニトロ化物 **9d** が四ニトロ化物 **9a** とともに得られ，発煙硝酸・濃硫酸の混酸中でニトロ化を行うことと，五ニトロ化物 **9d** が高収率で得られた。フルオレセイン二ヨウ化物 **2b** の発煙硝酸・濃硫酸の混酸中でのニトロ化では，フルオレセイン二ヨウ化三ニトロ化物 **9e** が得られた。いずれの構造も，NMR 分析により同定した。

フルオレセイン五ニトロ化物 **9d** については，水溶液における pH 1～14 での色変化を調べ，1 < pH < 3 ではピンク色，4 < pH < 11 ではオレンジ色，12 < pH では黄色を呈することを明らかにし，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ことも示した。

本研究は，酸塩基指示薬と，芳香族化合物のニトロ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ニトロ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　川原田 文，根岸 唯，鈴木 俊彰 *横浜国立大学教育学部紀要IV, 自然科学* **2018**, *1*, 11.

4　Baeyer, A. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1871**, *4*, 658.

5　Costi, p. M.; Rinaldi, M.; Tondi, G.; Pecorari, P.; Barlocco, D.; Ghelli, S.; Stroud, R. M.; Santi, D. V.; Stout, T. J.; Musiu, C.; Marangiu, E. M.; Pani, A.; Congiu, D.; Loi, G. A.; Colla, P. L. J. *Med. Chem.* **1999**, *42*, 2112.

6　Sabnis, R. W. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 6261.

7　日本化学会編 「改訂５版 化学便覧基礎編」 丸善(株), 2004; p. 354.

8　Ziegler, E.; Topper, H.; Sobotka, M. *Scientia Pharmaceutica* **1951**, *19*, 21.

9　Baeyer, A. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1871**, *4*, 555.

10　(a) Samoylov, D. V.; Mchedlov-Petrossyan, N. O.; Martynova, V. P.; Eltsov, A. V. *Zh. Obshch. Khim. (Russ. J. Gen. Chem.)* **2000**, *70*, 1343; (b) Samoylov, D. V.; Martynova, V. P.; Eltsov, A. V. *Zhurn. Obsh. Khim. (Russ. J. Gen. Chem.)* **1999**, *69*, 1509; (c) Rtishchev, N. I.; Samoylov, D. V.; Martynova, V. P.; Eltsov, A. V. *Zhurn. Obsh. Khim. (Russ. J. Gen. Chem.)* **2001**, *71*, 1549.

11　Mchedlov-Petrossyan, N. O.; Vodolazkaya, N. A.; Surov, Y. N.; Samoylov, D. V. *Spectrochim. Acta Part A* **2005**, *61*, 2747.

12　(a) Tamura, Z.; Terada, R.; Ohno, K.; Maeda, M. *Anal. Sci.* **1999**, *15*, 339; (b) 田村 善藏 *ぶんせき* **2005**, *10*, 557.