

ている程度にAが可溶化されているが、SEの場合は乳化された状態であるから投与した試料中のA粒子の大小によるものと推定される。

また、シヨ糖ステアレート相互の間ではHLB値の大きいもの程Aの血中濃度を増加する傾向が認められた。

本研究にあたり終始御鞭撻賜わった宮道学長に謹謝する。また、試料のビタミンAを御恵与いただいたエーザイ株式会社研究部ならびにシヨ糖脂肪酸エステルを御提供いただいた大日本製糖株式会社研究部に深謝する。

大野武男, 森 逸男, 森 正明, 森 善宣:

フタレイン系誘導体の水銀化合物に関する研究 (第5報)*1

マーキュロクロムの臭素の位置について (その2)*2

Takeo Ohno, Itsuo Mori, Masaki Mori and Yoshinori Mori:

Studies on the Mercuric Compounds of Phthalein Derivatives. V.

Position of Bromine in Mercurochrome (2)

Condensation of 4-bromoresorcinol with phthalic anhydride was studied under several conditions in the presence of zinc chloride, sulfuric acid or polyphosphoric acid as a condensation reagent, and instead of pure 2,7-dibromofl. a mixture of dibromo (main product), monobromofl. and fl. were obtained.

2,7-Dibromofl. separated from this mixture by column chromatographic method was proved unidentical with the dibromofl. obtained by conventional bromination method from fl. From these experimental results, it was assumed that bromine atoms in dibromofl. obtained by dibromination of fl. occupy the 4,5-positions. For comparison 2-mono and 2,4-dibromofl. were synthesised by condensation of bromoresorcinol and bromo-2,4-dihydroxybenzoylbenzoic acid.

著者等はハロゲン化 fluorescein (以下flと略記す) 水銀化合物に関する研究の一部として、ジブロム fl の臭素の占める位置について再検討した。従来マーキュロクロムは 2,7-dibromo-4-hydroxymercury fl のジナトリウム塩 (I) ¹⁾ として記載されたが、本品合成の出発原料である dibromofl は Adorf. v. Baeyer ²⁾ によって fl の臭素化により始めて得られて以来、その合成および構造に関しては多くの研究が行われてきた。 ³⁾⁴⁾⁵⁾ 1944年 Mik- ⁶⁾ kelsen は dibromofl の臭素の位置は 4,5 位ではなく、2,7 位であるとし、また Sandin 等は dibromofl を分 ⁷⁾ 解した結果 4,5 置換体であると報告した。その後長瀬, 大野*2等は fl の臭素化によって得られた dibromofl を濃水酸化アルカリ溶液で分解して、臭素の置換位置が 4,5 位であることを明らかにした。

*1 第4報: 本誌 10, 60 (1960).

*2 その1 (第3報): *ibid* 2, 24 (1952).

1) E. C. White: A. P. 1535003; Chem Zentr. 1925 (II), 614

2) A. v. Baeyer: Ann 183, 37 (1876).

3) G. Kürss: Ber. deut. chem. Ges. 18, 1429 (1885).

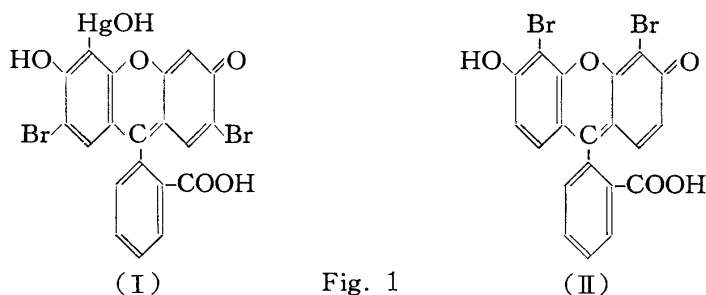
4) 牧鋭夫: 工化27, 169, 1079 (大13).

5) R. M. Harris, G. J. Marriott, J. C. Smith: J. Chem. Soc. 1843 (1936).

6) V. H. Mikkelsen: Arch. Pharm. 51, 470 (1944); Chem. Abstr. 42, 5441 (1948).

7) R. B. Sandin, A. Gillies, S. C. Lyn: J. Am. Chem. Soc. 61, 2919 (1939).

本報において著者等はブロムレゾルシンより 2,7-dibromofl を純粋に合成し, fl を直接臭素化して得た di-bromofl (4,5-dibromofl) と比較検討し, 第3報²で報告したマーキュロクロムにおける臭素の置換位置 (4,5位) を再確認した. さらにこれと関連する 2,4-dibromo および 2-monobromo-fl の純合成をも行った.



まず dibromo-fl は Phillips⁸⁾ 等の方法を参考として次のようにして合成した. すなわち fl を氷酢酸に懸濁し 25~30° の温を保ち, 攪拌しつつこれに 2 モル当量の臭素の氷酢酸液を滴下して合成した. この反応条件で生成した dibromofl は殆んど純粋であってペーパークロマトグラフィー³で検するとき, Rf0.38 に橙色のスポットを示す. 次にレゾルシンより 4-bromoresorcinol (VIII)⁹⁾ (mp 102~104°) および 2,4-dibromoresorcinol (VII)¹⁰⁾ (mp 77~78°) を誘導し, これらより 2,7-di-, 2,4-di- および 2-monobromofl を合成した. このうちで 2,4-dibromofl の外は新化合物である.

2,7-dibromofl の合成法は文献に記載がない. 著者等は 4-bromoresorcinol (VIII) 2 モル, 無水フタル酸 1 モルを塩化亜鉛の存在下に 150~160° で約 1 時間熔融し, 赤褐色ないし橙色の色素を得た. これをペーパークロマトグラフィー (以下 P.C と略記す) によって検するとき主として Rf0.53 に紅色帯を認め, 他に 0.59 に橙色帯を, また Rf0.68 に黄緑色帯を認めた. これらのスポットはそれぞれ 2,7-dibromo-, 2-monobromo-fl および fl に相当するものと考えられる. この反応において monobromofl および fl の生成するのは, 反応時 4-bromoresorcinol の臭素が一部脱離するためと考えられる. 著者等は塩化亜鉛のかわりに, より緩和な縮合剤であるポリリン酸 (以下 PPA と略記す) を用い, Rf0.53 のスポットに相当する dibromofl のみを収量よく得るための条件を検討した. その結果 PPA (n = 2.5-1.5) を用い室温で 24~48 時間縮合を行うときは, 常に fl のみの生成を認め, 水浴上 75~85°, 20 分間縮合反応を行うとき比較的好収率で得られることを知った. しかしいづれの条件によっても反応生成物は P.C によって検するとき, dibromo-, monobromofl および fl の混合物であった. これらはマグネゾールを吸着剤とするカラムクロマトグラフィーによって始めて単離することができた. すなわちマグネゾールを吸着剤とし, 3%アンモニア水を展開溶媒とする吸着カラムクロマトグラフィーにより Tabel 1. に示す 5 部分に分割した. すなわちフラクション No.4 の紅色部分を純ピリジンで抽出し, 赤色物質を 5%水酸化ナトリウム溶液, 30%酢酸液で処理し 2,7-dibromofl を得た. なお No.3 の部分を同様処理し P.C における Rf0.59 に相当する monobromo-fl を得た.

PPA を縮合剤とした反応物を精製するため, 別法として Heller¹¹⁾ の方法を参考とし, エタノール塩酸 (1:5)

8) M. A. Phillips: J. Chem. Soc. 725 (1932).

9) Org. Syntheses XVII, 23 (1937).

10) V. Hemmelmeier: Monatsch. Chem. **25**, 25 (1904), **33**, 981 (1912).

G. P. Rice: J. Am. Chem. Soc. **48**, 3127 (1926).

*3 展開溶媒 10% フェノール 1 : N-NaOH2 : H₂O7, 東洋濾紙 No.50, 上昇法

11) Gustar, Heller: Ber. deut. chem. Ges. **42**, 2188 (1909), *ibid.* **28**, 312 (1895).

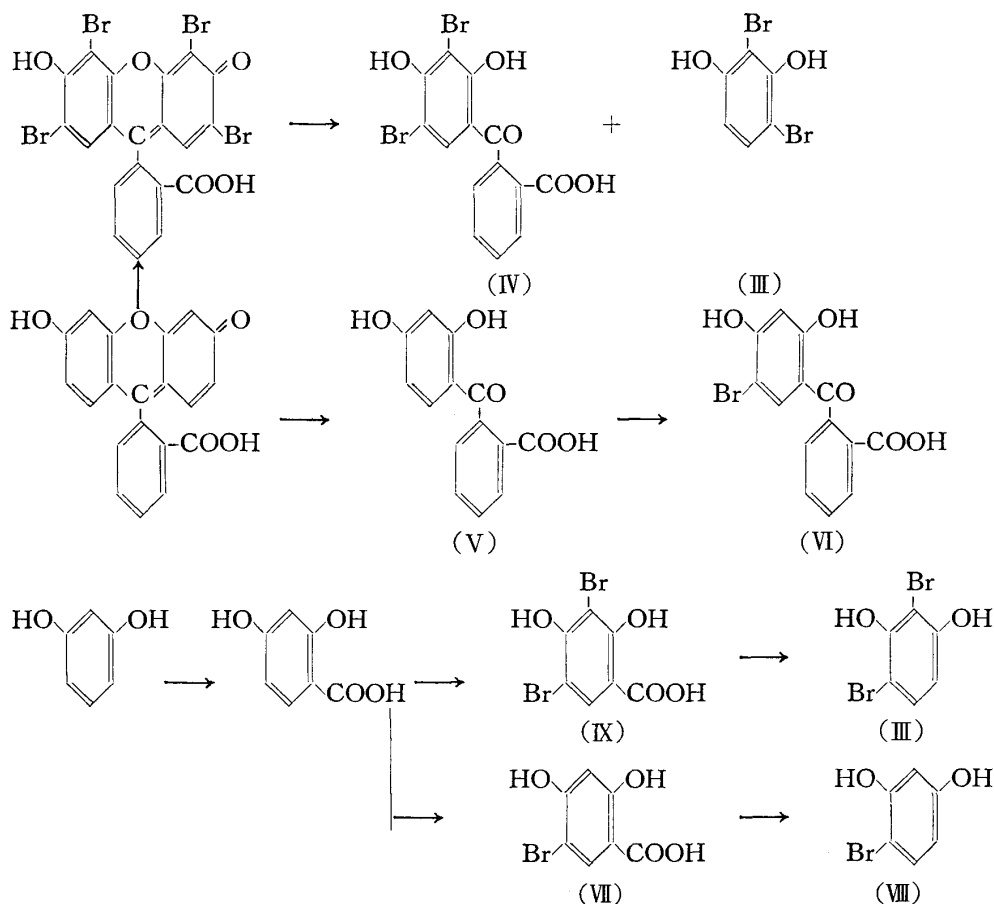
Table 1. Chromatography of 2,7-Dibromofl Compounds

| Fraction | Column chromatography | | P.C. of separated fraction | | Extracted volume mg | UV ^{max} _{EtOH} ^{mμ} (log ε) |
|----------|-----------------------|--------------|----------------------------|------|---------------------|---|
| | colour | column scale | fl | Rf | | |
| No. 1 | weak red | 15 | — | — | — | |
| 2 | yellowish brown | 12.5 | fl | 0.68 | ca 40 | 226(4.80), 272(4.87), 475(3.65) |
| 3 | pure red | 8.5 | 2-monobromo | 0.59 | 80 | 228(2.746), 280(2.380), 505(1.907) |
| 4 | red | 23 | 2,7-dibromo | 0.53 | 200 | 230(2.978), 278(2.507), 515(2.168) |
| 5 | whitish red | 13.5 | | | | |

を用い室温で約96時間ときどき振盪して夾雑物を溶かし去り、2,7-dibromo-fl を比較的容易に得た。

次に 2,4-dibromofl の合成について Heller, Baeyer¹¹⁾ は 3,5-dibromo-2,4-dihydroxybenzoylbenzoic acid (IV) (以下 DBA と略記する) とレゾルシンの等モルを縮合して合成しているが、その詳細な報告はないので著者等はこの縮合反応を追試した。

まずエオジンカリウム¹²⁾を50%水酸化ナトリウム溶液と加熱、分解して 2,4-dibromoresorcinol (III) (mp 7~78°) および 3,5-dibromo-2,4-DBA (IV) (mp 219~222°) を得た。なお(IV)は別途flの分解生成物すなわち2,4-DBA¹³⁾(V) (mp 200~202°) を常法により臭素化して得た化合物と同一物であることを認めた。



12) Leipzig, Heidelberg: Ann. **183**, 38 (1876).

次いで 3,5-dibromo-2,4-DBA (IV) とレゾルシンまたは 2,4-DBA (V) と 2,4-dibromoresorcinol (III) とを縮合せしめた. その結果反応生成物を P.C によって検するとき両者とも Rf0.38 (紅色帯), 0.59 (橙色帯) および 0.68 (黄緑色帯) にスポットを認め, この場合も dibromo, monobromo-fl および fl が混合して生成することを知った. これらを前記 2,7-dibromo-fl と同様にして精製し, 2,4-dibromo-fl を単離することができた. なおカラムクロマトグラフィー法によって精製するとき得られる monobromo-fl を P.C によって検するときともに Rf0.59 (橙色帯) を示し, 臭素の置換位は 2 位であることが推定される.

最後に 2-monobromo-fl は文献未知の物質であるので, 著者等は 5-bromo 2,4-DBA (VI) とレゾルシン, または 2,4-DBA (V) と 4-bromoresorcinol (VIII) とを縮合せしめてこれを得ようとした. このうち (VI) の臭素の位置はレゾルシンの β 位の活性および立体効果より 5 位と推定されるが, これを確定するため著者等は (VI) と 4-bromoresorcinol (VIII) とを縮合させ, ここに生成した dibromo-fl が前記 2,7-dibromo-fl と一致することを認めたので (VI) の臭素の置換位置は 5 位であることが証明された. この場合において (V) と (VIII) の縮合反応では, 活発な臭化水素の脱離が認められ, fl が多量に生成し, また (VI) とレゾルシンの縮合では, 2-monobromo-fl が比較的収率よく合成されることが認められた. これらの反応において副生した fl は再沈澱法により分離することによって, 2-monobromo-fl を純粋に得た. なお先に dibromo-fl の合成のとき副生した monobromo-fl は Rf 値, UV スペクトル値等から 2-monobromo-fl と一致することがわかった.

以上の研究結果から fl を直接臭素化して得た dibromo-fl は Mikkelsen のいう “2,7-dibromo-fl” ではなく, 第3報において報告した如く 4,5-dibromo-fl であることが研究できた. なお 4,5-dibromo-fl およびこれに関連した物質の純合成は次報で発表する予定である.

Table 2.

| No | Fluorescein | Mp of diacetate ^{*4} | P.C | | Br % | | UV ^{EtOH} _{max} $m\mu$ (log ϵ) |
|----|--------------|-------------------------------|------|------------------|-------|-------|--|
| | | | Rf | Spot colour | calcd | found | |
| 1 | fl | 201~202° | 0.68 | yellowish orange | — | — | 226(4.80), 272(4.87), 475(3.65) |
| 2 | 2-monobromo- | 211~215 | 0.59 | orangeish yellow | 13.92 | 14.03 | 228(2.746), 280(2.380), 505(1.907) |
| 3 | 2,4-dibromo- | 208~210 | 0.38 | orange | 32.64 | 32.24 | 230(3.278), 282(2.807), 500(2.818) |
| 4 | 2,7-dibromo- | 238~242 | 0.53 | reddish pinc | 32.64 | 32.40 | 230(2.798), 278(2.507), 515(2.168) |
| 5 | 4,5-dibromo- | 214~216 | 0.33 | reddish pinc | 32.64 | 32.54 | 234(2.834), 285(2.42), 525(2.035) |

実 験 の 部

Fluorescein の臭素化反応

fl 22.2 g (2/30mol) を氷酢酸85mlに加え, Br₂22 g (45/300mol) の氷酢酸液 60ml を 25~35° に加温し約 2 時間要して 滴下した. この間生成物を P.C により Rf 値を検討しつつ Br₂ 溶液を加えた. 次いで赤褐色の反応溶液中に約 3 倍量の水を加え, 析出した橙色沈澱を吸引濾取した後, 5% NaOH 液に溶解して不溶物を濾去し, 30% AcOH を加えて橙色沈澱を得た. 熱湯 200ml で十分洗浄後乾燥するとき赤色粉末を収率 89.5% で得た. 1.0 g を 5ml の Ac₂O と常法によりアセチル化し, 粗結晶 0.6 g を得た. これを氷酢酸より再結晶して無色針状

13) R. M. Harris *et al.*: J. Am. Chem. Soc. **61**, 2918 (1939).

*4 All melting points are uncorrected.

晶 0.4 g を得た. mp214~216°

2,4-Dibromofluorescein の合成

i) 3,5-Dibromo-2,4-dihydroxybenzoylbenzoic acid (IV) の合成

(a) 2,4-Dihydroxybenzoylbenzoic acid の臭素化: Heller¹⁴⁾の方法により合成し, 10% EtOH より再結晶した. 収率 85.3%, 帯黄白色粉末. mp218~224°

(b) エオジンカリウム塩の分解: KOH55 g (49/100mol) を水 50ml に溶かした溶液に常法により合成したエオジン 32.4 g (5/100ml) を加えて溶かし, 濾過した後濾液を水浴上で蒸発乾固し, 黄緑色金属様光沢を有する鱗片状結晶を得た. 収率 94.4%. これを Baeyer,²⁾ R. Meyer¹⁵⁾等の方法により約 2 倍量の 50% NaOH と 120~130°, 30 分間加熱分解した後, 10% HCl で中和し, 10% EtOH より再結晶を行い帯黄白色粉末を得た. mp 219~222°. 収率 52%.

ii) 2,4-Dibromoresorcinol の合成 (III)

文献¹⁶⁾記載の方法により β-レゾルシル酸 6.2 g より 2,4-ジブロムレゾルシル酸¹⁷⁾ 8.7 g (収率 70.1%) を得, 脱炭酸処理して微褐色針状晶 5 g を得た. mp 77~78°.

iii) 縮合反応

(a) 3,5-dibromo-2,4-DBA (IV) 2.1 g (1/200mol), レゾルシン 0.6 g (1/200mol) および PPA (n=2.5) 20 g を混和し水浴上 75~85° に約 20 分間縮合せしめた. 反応後生成した赤色物質に氷冷しつつ水を加え, 析出した黄色物質を濾取し, 5% NaOH および 30% AcOH から再沈澱した後沈澱を濾取, 乾燥して赤褐色粉末 1.9 g を得た. 収率 76%.

(b) 2,4-dibromoresorcinol 1.4 g (1/200mol), 2,4-DBA (V) 1.3 g (1/200mol) を (a) と同様に加温して縮合し, 赤橙色粉末 1.1 g を得た. 収率 44%.

両縮合物は P.C によって検した結果, とともに Rf0.38 (橙色帯), 0.49 (黄橙色帯) 0.65 (黄色) に 3 スポットを認めた.

iv) 分離反応

(a) クロマトグラフィーによる分離: 内径 30mm, 長さ 240mm のガラス管に約 65 g のマグネゾールを吸引しつつ充填し, dibromo-, monobromo-fl および fl の混合物 300mg の N-NaOH 溶液 10ml を注入して吸着させたのち, 3% NH₄OH で展開し下層より No.1~7 の各部分に分離した. そのうち No.5 の部分をピリジンで抽出した後, 溶媒を減圧で留去し濃赤色粉末 70mg を得た. 本品のジアセタートは白色針状晶, mp208~210° を示す. また P.C によって検するとき Rf0.38 に紅色帯となる.

(b) 再沈澱法: 2,4-dibromo-fl の粗結晶 5.7 g を EtOH80ml, HCl 40ml の混液中に約 96 時間放置して得た暗黄褐色懸濁液に水約 500ml および AcONa20 g を加えて水浴上で加温する. このとき析出した結晶を濾取, 水洗して EtOH300ml より再結晶を行った. 赤橙色鱗片状結晶 1.7 g, 収率 28.8%. ジアセタートは帯黄橙色針状晶で mp 208~210°, Rf 0.38 (橙色帯) である.

2,7-Dibromofluorescein の合成

i) 4-Bromoresorcinol の合成: 文献記載⁹⁾の方法に従いβ-レゾルシル酸より 37.2%. の収率で帯黄白色針状

14) Heller: Ber. deut. chem. Ges. **28**, 316 (1895); J. Am. Chem. Soc. **46**, 2289 (1924).

15) R. Meyer, H. Meyer: Ber. deut. chem. Ges. **29**, 2624 (1896).

16) Org. Syntheses **10**, 94 (1930).

17) *ibid* **17**, 23 (1937).

Table 3. Chromatographic Separation of Reaction Products

| Fract No. | Column chromatography | | P.C | | Extraction volume (mg) | Mp of diacetate | UV ^{max} _{EtOH} ^{mμ} (log ε) |
|-----------|-----------------------|--------------|--------------|------|------------------------|-----------------|---|
| | colour | column scale | Product | Rf | | | |
| 1 | dark violet | 5 cm | — | — | — | — | — |
| 2 | black brown | 0.2~0.3 | — | — | — | — | — |
| 3 | yellow | 2.5 | fl | 0.68 | 30 | 201~202° | 226(4.80), 272(4.87), 475(3.67) |
| 4 | yellowish orange | 2.5 | 2-monobromo | 0.59 | 20 | 211~215° | 228(2.746), 280(2.380), 505(1.907) |
| 5 | orangeish pink | 3.5 | 2,4-dibromo- | 0.38 | 70 | 208~210° | 280(3.278), 288(2.807), 500(2.818) |
| 6 | weak violet | 2.0 | — | — | — | — | — |
| 7 | violetish white | 7.5 | — | — | — | — | — |

品を得た. mp 97.2°.

ii) 縮合反応: 4-bromoresorcinol (VII) 0.2 g (1/900mol), 無水フタル酸 0.1 g (1/1800mol) を十分混和し, 縮合剤として PPA (n=2.5) を約 10 倍量加えて水浴上 75~85°, 10 分間加温反応を行った. 次いで氷冷しつつ水を加えて PPA を分解し析出した黄褐色油状物を 5% NaOH に溶解した後, 30% AcOH を加えて橙黄色粉末 200mg を得た. Rf0.53 (紅色帯), 0.59 (橙色), 0.68 (黄緑色帯).

iii) 分離反応

(a) クロマトグラフィー分離: マグネゾール 100 g を直径 50mm, 高さ 900mm のクロマト管内に充填し, 縮合生成物 0.4 g を N-NaOH 8ml に溶解して吸着させた後, 3% NH₄OH で展開するとき Table 1. のような結果を得た. また No.4 のフラクションをピリジンで抽出後溶媒を留去し, 残渣を 5% NaOH, 30% AcOH にて処理し赤色粉末 0.2 g を得た. ジアセタートは黄灰色粉末で mp238~242°, Rf0.53 (紅色帯) である.

(b) 再沈澱法: 混合物 0.5 g を EtOH 20ml, HCl 100ml 中に 48~96 時間懸濁した後水を加えて暗黄色析出物を濾別し 5% NaOH, 30% AcOH で再沈澱を行った. 次いで EtOH 500ml より再結晶し暗赤色粉末 0.2 g を得た. Rf0.53 (紅色帯)

2-Monobromofluorescein の合成

i) 5-Monobromo-2,4-dihydroxybenzoylbenzoic acid (VI) の合成: 2,4-DBA 5.2 g (1/500mol) を氷酢酸 50ml 中に加え, 水浴上で 35~30° に加温しつつ Br₂ 4.0 g (2.7/100mol) の氷酢酸溶液 20ml を約 2 時間要して滴下した. 生成した黄白色の沈澱を濾取し, 10% EtOH より再結晶を行い, 黄白色針状晶 6.5 g を得た. 収率 97%, mp218~224°

ii) 縮合反応

(a) 2,4-DBA 1.3 g (1/200mol), 4-ブロムレゾルシン 1.0 g (1/200mol) を水浴上 80° で PPA (n=2.5) 15g とともに 10 分間縮合反応を行い, 黄褐色粉末 1.0 g を得た. 収率 49%.

(b) 5-bromo-2,4-DBA (VI) 0.3 g (1/1000mol), レゾルシン 0.1 g (1/1000mol), PPA (n=2.5) 3g を水浴上 80° で 10 分間加温して縮合せしめ黄褐色粉末 0.2 g を得た. 収率 48.7%, 本品の P.C は Rf0.59 に黄橙色, 0.68 に黄緑色のスポットを示す.

iii) 分離精製: 混合物 0.4 g (1/1000mol) を EtOH 20ml, HCl 100ml 中に 96 時間懸濁し dibromo-fl の精

