

実験課題 P7. 水相での *N*-アセチルフェニルアラニンの合成と純度分析

この問題は2つのパートで構成される。はじめにアルカリ水溶液中でフェニルアラニンと無水酢酸から *N*-アセチルフェニルアラニンを合成する。続いて酸塩基滴定により生成物の純度を分析する。

試薬

化学式	名称	状態	GHS 危険有害性情報
$C_6H_5CH_2CH(NH_2)CO_2H$	フェニルアラニン	固体	危険性なし
$(CH_3CO)_2O$	無水酢酸 (指導教員から貰う)	液体	H226, H302, H314, H318, H332, H335
HCl	塩酸 (6 mol L ⁻¹)	水溶液	H290, H314, H318
HCl	塩酸 (2 mol L ⁻¹)	水溶液	H290, H314, H318
NaOH	水酸化ナトリウム水溶液 (1.0 mol L ⁻¹)	水溶液	H290, H314, H318
$C_8H_5KO_4 \cdot 2H_2O$	フタル酸水素カリウム二水和物	固体	危険性なし
C_2H_6O	無水エタノール	液体	H225, H316, H319
$C_{20}H_{14}O_4$	フェノールフタレイン (PP, 0.2%エタノール溶液)	エタノール溶液	H225, H319
CH_2Cl_2	ジクロロメタン	液体	H315, H319, H336, H351
N/A (混合物なので書けない)	石油エーテル (ヘキサンで代用する。ペンタンでも代用可)	液体	H225, H304, H315

CH ₃ COOC ₂ H ₅	酢酸エチル	液体	H225, H319, H333, H336
H ₂ O	蒸留水	液体	危険性なし

器具・装置

丸底フラスコ (100 mL)	1 個
マグネチックスターラーと回転子	1 組
冷却管	1 本
ビーカー (100 mL)	1 個
ガラス棒	1 本
ブフナーろうと	1 個
シリンジ (5 mL)・ステンレス針付き	1 本
試薬ビン (500 mL)	1 個
メスシリンダー (100 mL)	1 個
三角フラスコ (250 mL)	3 個
ビュレット (50 mL)・テフロン製コック付き	1 本
ビュレットスタンド・クランプ付き	1 台
秤量瓶 (25 × 25 mm)	2 個
氷浴	1 個

その他の用具

TLC プレート、キャピラリー、展開槽

pH 試験紙

実験手順

I. *N*-アセチルフェニルアラニンの合成

1. フェニルアラニン 1.0 g と NaOH 水溶液 25.0 mL (1.0 mol L⁻¹) を、回転子を入れた丸底フラスコ (100 mL) に入れる。フェニルアラニンが完全に溶解するまで攪拌する。
2. シリンジで無水酢酸 2.0 mL を加え (この操作は教員に依頼すること)、激しく攪拌しながら 40 分間還流する。

(注：この段階では温度が上昇する。無水酢酸を扱うときの注意：可燃性と腐食性があるので、皮膚や目への接触を避け、皮膚の損傷や催涙を防ぐこと。)

3. 室温まで冷却した後、溶液をビーカー (100 mL) に注ぎ、ガラス棒でかき混ぜながら pH が 1~2 になるまで塩酸 (6 mol L^{-1}) を滴下する (pH 試験紙で確認する)。溶液から結晶が析出するはずである (試験紙で pH を調べるときの注意：シャーレまたは時計皿の上に置いて用いる)。
4. ビーカーを氷浴につけて完全に結晶を析出させる (結晶が析出しないときの対処：フラスコを激しく振って結晶を析出させる)。
(訳注：フラスコの壁面をスパチュラやガラス棒でこすって刺激を与えると結晶が析出してくることがよくある。これを推奨する。)
5. ブフナー漏斗で減圧ろ過し、生成物を塩酸 (2 mol L^{-1} , $5 \text{ mL} \times 3$) で洗浄する。ヘキサンと酢酸エチル (1:1) を展開溶媒として、シリカゲル G プレートで TLC を行い、生成物を確認する (生成物を少し取りジクロロメタンに溶かす (約 1%))。
(シリカゲルプレートはシリカゲルを接着剤でガラス板に塗り付けて作成してある。)
6. 100°C のオーブンで 30 分乾燥させたのち、秤量して収率を算出する (100°C を超えないように注意すること。収率は、生成物の実際の収量を理論収量で割って求める)。

II. NaOH 標準液の校正

7. 試薬ビン (500 mL) に NaOH 溶液 (1 mol L^{-1}) 25 mL と蒸留水 475 mL を入れ、よく振って混合する。
8. フタル酸水素カリウム 0.2~0.3 g を「風袋差し引き」で三角フラスコ (250 mL) に正確に量り入れ、蒸留水 30 mL を加える。
9. フタル酸水素カリウムが完全に溶解した後、PP を 2 滴加え、NaOH 標準液で終点まで滴定する。この滴定を 3 回繰り返す、NaOH 標準液の濃度を算出する。

III. 生成物の純度分析

10. 三角フラスコ (250 mL) に 0.20~0.25 g の生成物を「風袋差し引き」で正確に秤量し、20 mL の無水エタノールを加えて溶解させる。蒸留水 30 mL を加え、よく振り混ぜる。
11. PP を 2 滴加え、NaOH 標準液で終点まで滴定する。滴定を 3 回繰り返し、生成物の純度を算出する。

問題

1. ペプチドやタンパク質の合成において、*N*-アセチルフェニルアラニン合成する目的は何かを説明せよ。
2. この実験で、リトマスではなく PP を指示薬として使用したのはなぜかを説明せよ。
3. 滴定の終点を、ピンク色に呈色した後に 30 秒間色が消えなかった時点、とするのはなぜかを説明せよ。