

# 【コラム vol.34】 試薬と反応溶媒の順序は生成物の収率と純度に影響するか？

Bob Bickler

「合成変数は、反応生成物の収率と純度にどのような影響を与えるのか？」この疑問は、私が合成化学を研究する中で、常に抱いてきたものです。この投稿では、反応物と溶媒を加える順番について検討しました。

同僚のベス・デントンはペプチドの専門家だが、彼女のペプチド生成物には影響があると言う。しかし、これは低分子合成にも当てはまるのだろうか？非常に古いテレビコマーシャルの言葉を借りれば、「探究心は知りたがる」になります。

私の反応は単純で、イサト酸無水物+ベンジルアミン、[溶媒は水](#)になります（図 1）。水に溶けるのはベンジルアミンだけだが、加熱した水は誘電率が低いので、有機化合物を可溶化する能力が高まります。これらの実験では、添加順序を変えた 2 つの反応を行いました。

1. -イサト酸無水物+ベンジルアミン+溶媒
2. -イサト酸無水物+溶媒+ベンジルアミン

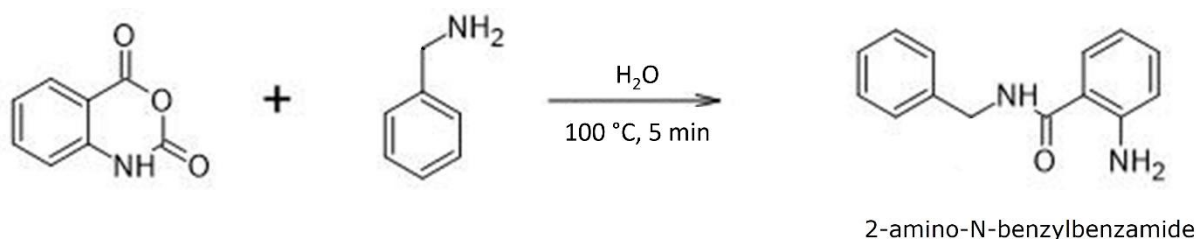


図 1：イサト酸無水物とベンジルアミンを水中で 100 °C、5 分間反応させると、2-アミノ-N-ベンジルベンズアミドが得られました。

最初の反応セットは発熱し、溶媒を加えると冷却しました。溶媒が塩基の前に無水物に加えられた 2 番目の反応セットは、顕著な昇温の兆候は示しませんでした。

反応を促進するために、Biotage® Initiator+ でマイクロウェーブ加熱を使用し、無水物 250 mg とアミン 250 mg に水 4 mL を加えて実施しました。反応を 100°C で 5 分間行い、バイアルのキャップを外す前に冷却されました。反応生成物は有機物であったため、[DCM と ISOLUTE® Phase Separator](#) での液液抽出しました。

粗収量を確認するために、DCM で抽出した生成物を Biotage® V-10 Touch のシンチレーションバイアルで濃縮させました。収率はほぼ同じ程度になりました（表 1）。

表 1：抽出後の反応物の粗収率（グラム）。IA = イサト酸無水物、BA = ベンジルアミン。

Order	Step	Yield
IA+BA+Solvent	Crude/extract	0.3653
IA+Solvent+BA	Crude/extract	0.3553

私の次のステップは順相フラッシュクロマトグラフィーで精製することです。薄層クロマトグラフィーでは、20%酢酸エチル/ヘキサン中のRfが0.21であり、副生成物の溶出はほとんどありませんでした。これは高負荷で簡単に精製できるはずなので、5グラムのシリカカラム（Biotage® Sfär HC）を使い、粗生物をドライロードして精製を実施しました。

他の化合物がアミド反応生成物と共溶出するのではないかと考え、Biotage® Isolera Dalton 2000Mass フラッシュ精製システムを使用し、4つのm/z+H質量、+226.6（生成物）、+314.8、+266.8、+372.8をターゲットとしました。

ここまでは順調に推移しました。粗収量は非常によく似ており、質量検出可能な副生成物も同じで、違いがないことを示しました。

精製結果はまた、非常によく似ているが、検出された副生成物の質量はすべて私の生成物と共溶出し、少なくとも1つの他の副生成物による褐色を残しています（図2）。

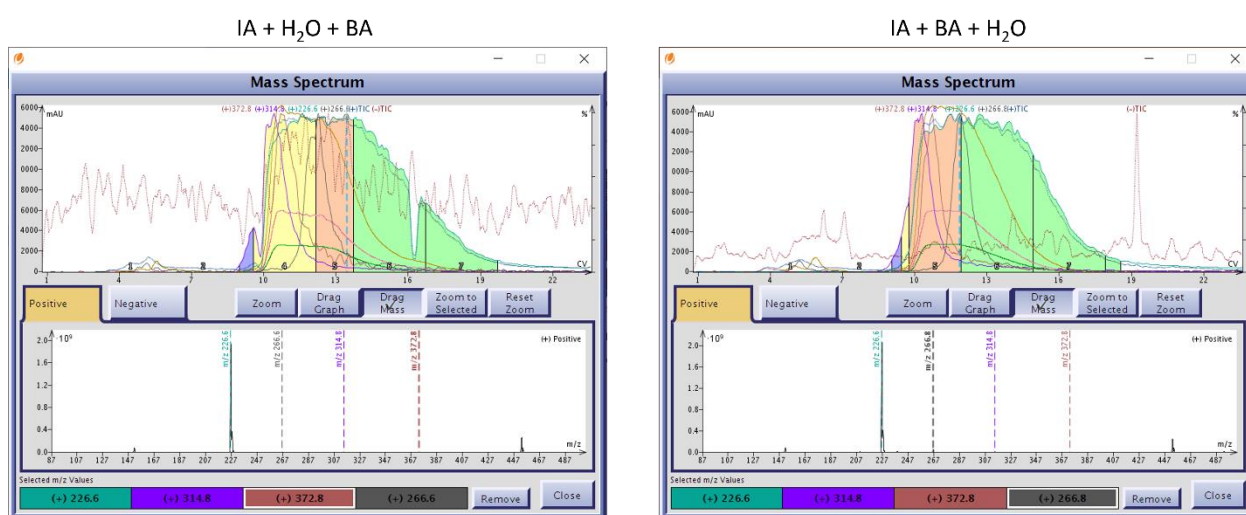


図2：イサト酸無水物+水+ベンジルアミン反応（左）とイサト酸無水物+ベンジルアミン+水反応（右）の順相フラッシュ精製結果はほぼ同じで、+m/z+H 314.8、372.8、266.8 という3つの副生成物が共溶出した。

このような状況に遭遇した場合、私は通常、生成物フラクションを逆相で再精製しています。なぜなら、順相では分離できないものが逆相では分離できることが多いからです。最初に順相で精製し、分離した生成物を逆相で再精製するこのテクニックは、[直交型フラッシュクロマトグラフィー](#)として知られています。このテクニックは、順相で分離できない副生成物や不純物を除去する必要がある場合に非常に役立ちます。

逆相フラッシュクロマトグラフィーの準備として、アミド生成物を含む順相フラクションを濃縮させ、秤量したところ、非常によく似た収率が得られました（表 2）。

表 2：両反応セットの順相精製物の収率（グラム）。

Order	Step	Yield	
IA+BA+Solvent	NP	0.2979	82%
IA+Solvent+BA	NP	0.3016	85%

逆相フラッシュでは、再びドライローディング（シリカ上）を使用し、12グラムの Sfär C18 カラムを 35-80%メタノールグラジエントで精製を行いました。その結果、3つの共溶出副生成物のうち2つがアミド生成物から分離され、 $m/z+H$  266.8 の副生成物だけがまだ共溶出していました。検出可能ではあるが、副生成物の量は、図 3 に見られるように、生成物に比べて非常に少量でした。

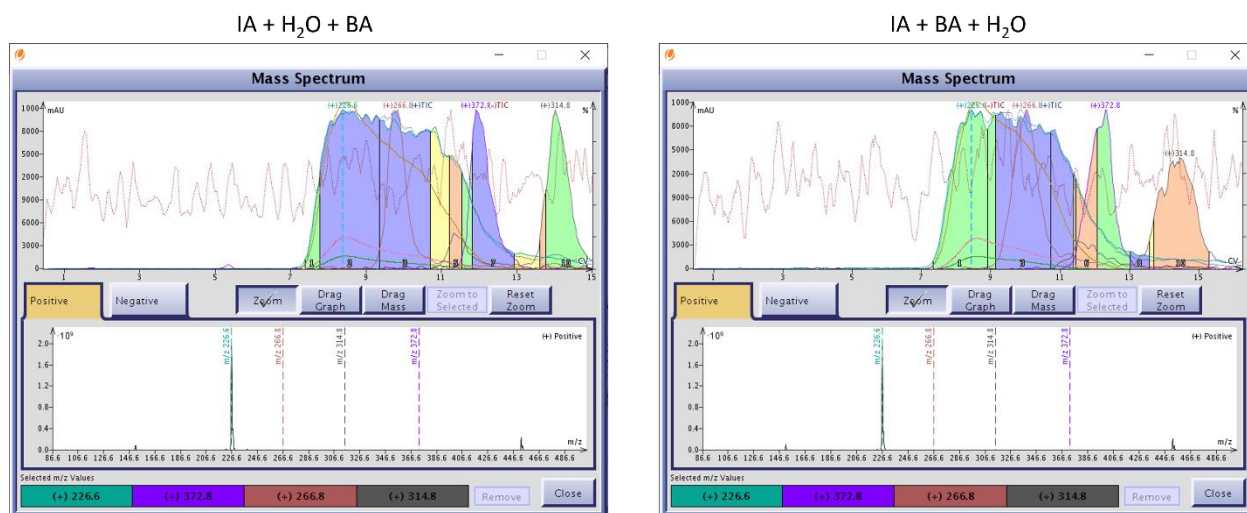


図 3：両反応から順相分離された生成物ピークの逆相精製では、 $m/z+H$  314.8 と 372.8 の副生成物が除去されていました。左-無水物+水+アミン。右-無水物+アミン+水。

完璧とは言えないが、順相精製よりはるかに良い結果でした。

生成物フラクションを乾燥させ、重量を測定したところ、ほぼ同じ収率が得られました（表3）。

表3：逆相フラッシュ精製生成物の収率（グラム）と回収率

Order	Step	Yield	
IA+BA+Solvent	RP	0.2834	95%
IA+Solvent+BA	RP	0.2881	96%

つまり、水中で行うこのアミド反応では、試薬と溶媒を加える順番に違いは確認できませんでした。両反応から精製された生成物は、ほぼ同じ収率で、明るい白色の結晶性固体でした（図4）。



図4：直交精製した両方のアミド反応生成物からの白色結晶

この合成で私が取り組んだ他のファクターの検証結果に興味がある方は、下のリンクをクリックして私たちのブログサイトをご覧ください。

Read More

元の記事：

<https://www.biotage.com/blog/does-reagents-and-reaction-solvent-order-impact-an-amide-product-yield-and-purity>