

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ПЕТРА ВЕЛИКОГО»**

**Институт биомедицинских систем и биотехнологий
Высшая школа биотехнологий и пищевых производств**

**Методические указания
по организации и проведению лабораторных работ по дисциплине
«Химия и синтез биологически активных веществ»**

Направление подготовки 19.04.01 «Биотехнология»

Квалификация (степень) выпускника - магистр

Форма обучения – очная, заочная

**Санкт-Петербург
2020 г.**

Авторы: Л.М. Попова, д.х.н, профессор, профессор ВШБиПП, Е.И. Почкаева, зав. лабораторией ВШБиПП, Ю.Г. Базарнова, д.т.н., профессор, директор ВШБиПП

Попова Л.М., Почкаева Е.И., Базарнова Ю.Г. Методические указания по организации и проведению лабораторных работ по дисциплине «Химия и синтез биологически активных веществ». – СПб., 2020. – 36 с.

Методические указания одобрены на заседании Высшей школы биотехнологий и пищевых производств ИБСиБ, протокол № 8 от 24.04.2020

Методические указания составлены в соответствии с учебным планом и рабочей программой дисциплины «Химия и синтез биологически активных веществ» и предназначены для магистрантов очной и заочной форм обучения по направлениям подготовки УГСН 19.00.00 «Промышленная экология и биотехнологии».

Содержание

Пояснительная записка.....	4
1. Основные правила работы в лаборатории Органического синтеза.....	6
1.1 Техника безопасности при работе с органическими веществами.....	7
1.2 Критерии и контроль чистоты продуктов.....	10
Лабораторная работа № 1. Нитробензол.....	11
Лабораторная работа № 2. о-, <i>n</i> -Нитрохлорбензол.....	15
Лабораторная работа № 3. Синтез анилина.....	18
Лабораторная работа № 4. Циклогексен.....	20
Лабораторная работа № 5. Выделение абиетиновой кислоты из талловой канифоли	22
Лабораторная работа № 6. 1,3- и 1,6-Динитрокарбазол.....	29
Лабораторная работа № 7. 1,3- и 1,6-Диаминокарбазол.....	32
Лабораторная работа № 8. Диазотирование диаминокарбазолов.....	34
Список основной и дополнительной литературы.....	36

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Методические указания по организации и проведению лабораторных работ по дисциплине **«Химия и синтез биологически активных веществ»** предназначены для подготовки магистрантов очной и заочной форм обучения по направлениям подготовки УГСН 19.00.00 «Промышленная экология и биотехнологии».

Лабораторный практикум – одна из обязательных форм изучения дисциплины будущими химиками-биотехнологами.

Цель лабораторного практикума – закрепление и углубление полученных студентами теоретических знаний по синтезу, способам очистки и идентификации органических биологически активных веществ, а также приобретение практических навыков использования в исследовательской работе пакетов программ ACDLabs и Pass online.

Настоящие методические указания содержат лабораторные работы, которые позволят студентам закрепить теорию по наиболее сложным разделам курса и направлены на формирование следующих компетенций:

ПК-1: Способен к планированию, организации и проведению научно-исследовательских работ в области биотехнологии;

ИД-6 ПК-1: Способен проводить исследования природных биологически активных веществ в составе биологических объектов, определять их состав и свойства.

В результате выполнения лабораторных работ по дисциплины **«Химия и синтез биологически активных веществ»** студенты должны:

Знать: строение, свойства, способы получения, генетическую связь органических биологически активных веществ разных классов;

Уметь составлять уравнения взаимодействия органических веществ;
производить теоретические расчеты констант веществ с помощью пакета программ ACDLabs,

определять биологическую активность соединений с использованием пакета программ Pass online.

измерять и интерпретировать УФ и ИК спектры полученных соединений.

В качестве объектов синтеза выбраны соединения, многие из которых являются продуктами или полупродуктами тонкого и основного органического синтеза, а также продуктами природного происхождения. В практикуме подробно изложены методики синтеза большого числа соединений, широко используемых в технике, медицине, фармацевтической промышленности и в качестве красителей.

Каждый синтез представляет собой цикл экспериментальных исследований, включающий различные виды операций для проведения синтеза органических соединений (нагревание, охлаждение, перемешивание и др.) и выделению веществ из реакционной смеси и их последующей очистке (кристаллизация, перегонка, хроматография).

Перед выполнением экспериментальной части лабораторного практикума студенты должны ознакомиться с оснащением лаборатории и правилами работы в ней, знать основные виды лабораторной посуды, владеть навыками сборки приборов, уметь определять физические константы органических веществ.

1. ОСНОВНЫЕ ПРАВИЛА РАБОТЫ В ЛАБОРАТОРИИ ОРГАНИЧЕСКОГО СИНТЕЗА

Для проведения лабораторных работ каждый студент занимает определенное место на лабораторном столе, на котором установлены три штатива с набором лапок, колец и зажимов к ним. Нагревательными приборами являются электроплитки, которые размещаются в специально отведенном для этого месте.

Рабочее место должно быть свободным от и чистым. На столе должны быть только необходимая химическая посуда и реактивы. Студент обязан иметь при себе рабочую одежду – хлопчатобумажный халат, а также полотенце или чистую тряпку.

В биохимических лабораториях обычно используют стеклянную посуду: стаканы, колбы, холодильники, дефлегматоры, делительные воронки, хлоркальциевые трубки, термометры. Они изготавливаются, как правило, из специального стекла, которое устойчиво к кислотам, щелочам и большинству химических реагентов, обладает сравнительно небольшим коэффициентом линейного расширения. Посуда из стекла очень удобна – она прозрачна, хорошо моется и сушится. Основным ее недостатком является довольно высокая хрупкость.

В работе следует использовать только чистую и целую (без трещин и сколов) химическую посуду. Иногда необходимо иметь сухую посуду. Это особенно важно, если в ней будут проводиться реакции, идущие только в отсутствие следов влаги.

Использованную во время работы посуду необходимо сразу же вымыть и сдать лаборанту. Грязную посуду обычно моют теплой водой с применением мыла или стирального порошка. При этом используют различные щетки и ерш. Стеклянная посуда может считаться чистой, если на ее стенках вода образует равномерную пленку.

Для очистки посуды от нерастворимых в воде органических веществ можно использовать органические растворители: спирты, ацетон, хлороформ и др., а затем воду с мылом. Если посуду невозможно отмыть водой и органическими растворителями, то ее моют хромовой смесью (бихромат калия и серная кислота).

Перед тем как приступить к выполнению лабораторной работы, необходимо внимательно изучить методику синтеза (пропись), по которой будет проводиться работа, изучить свойства получаемого вещества и исходных соединений.

Необходимо помнить, что практически все органические вещества в той или иной степени ядовиты, большинство из них являются горючими веществами, а некоторые взрывоопасны. Поэтому, работая в лаборатории биоорганического синтеза, необходимо строго соблюдать основные правила техники безопасности.

1.1 Техника безопасности при работе с органическими веществами

1. Студенты приступают к работе в лаборатории только в присутствии: преподавателя или лаборанта. Работать одному в лаборатории запрещается.
2. Во время работы в лаборатории соблюдайте тишину, чистоту и порядок на своем рабочем месте. Нельзя оставлять действующую установку без присмотра.
3. Прежде чем взять необходимое количество вещества, внимательно прочитайте надпись на этикетке емкости, в которой содержится вещество.
4. Нельзя брать химические реактивы руками. Сыпучие реактивы отбирают сухим чистым шпателем или ложкой, жидкости – отмеряют цилиндром.

5. В лаборатории нельзя пить воду и принимать пищу. Категорически запрещается курить.
6. Запрещается выливать в раковины органические вещества, концентрированные кислоты и щелочи. Для слива этих веществ в вытяжном шкафу должны стоять отдельные емкости.
7. Не разрешается бросать в раковину бумагу, вату, разбитое стекло. Эти материалы выбрасывают в мусорное ведро.
8. Работать с ядовитыми, раздражающими органы дыхания и сильно пахнущими веществами необходимо только в вытяжном шкафу при хорошо действующей вентиляции.
9. Легковоспламеняющиеся жидкости (ЛВЖ) и горючие жидкости (ГЖ) нельзя нагревать на плитке в открытом сосуде. ЛВЖ и ГЖ нагревают при необходимости на водяной бане в колбе с обратным холодильником.
10. При нагревании реакционной смеси или при перегонке органических жидкостей нельзя наглухо закрывать прибор. Приборы для синтеза и для перегонки должны сообщаться с атмосферой. Несоблюдение этого правила может привести к взрыву.
11. При перегонке жидкостей для равномерного кипения используют пористые тела («кипелки»). Перегонять жидкости без кипелок или бросать кипелки в горячую жидкость категорически запрещается. Кипелки помещают в жидкость перед началом нагревания.
12. Колбу для перегонки заполняют жидкостью не более $\frac{2}{3}$ объема. При перегонке ЛВЖ обязательно используют холодильники с водяным охлаждением. Нельзя перегонять жидкость досуха – это может привести к взрыву.
13. Работать с концентрированными кислотами и щелочами следует осторожно и аккуратно. При разбавлении кислоты необходимо при перемешивании небольшими порциями кислоту прибавлять к воде, а не

оборот. Глаза при этом должны быть защищены очками или маской из органического стекла.

14. При попадании кислот на кожу нужно быстро промыть обожженное место струей воды, а затем – 2-3 %-м раствором соды. При ожоге едкими щелочами необходимо также хорошо промыть обожженное место водой, а затем 2-3 %-м раствором уксусной кислоты. При случайном попадании кислоты или щелочи в глаза тотчас промыть их большим количеством воды, а затем обработать тампоном, смоченным в растворе соды или борной кислоты, и вновь промыть водой.
15. При работе с бромом, ртутью, металлическим натрием, а также при работе с сосудами под давлением, перегонке под вакуумом, при работе со сжатыми газами из баллонов необходимо ознакомиться со специальными инструкциями для работы с такими веществами и установками.
16. Приступая к работе в лаборатории, надо хорошо познакомиться с имеющимися средствами пожаротушения (ящик с песком, огнетушитель) и аптечкой с набором необходимых средств оказания первой помощи, а также с их местонахождением.
17. При возникновении пожара нужно сразу отключить в лаборатории вентиляцию и подачу электроэнергии, принять меры по ликвидации загорания. Если загорелся эфир, бензол, бензин и др. ЛВЖ, пламя тушить песком или накрыть одеялом, предотвратив доступ кислорода. В случае воспламенения одежды необходимо немедленно набросить на пострадавшего халат, одеяло, куртку. Ни в коем случае не давать ему бежать, так как это усиливает пламя. При необходимости вызвать пожарную команду по телефону 01 или 112.
18. Закончив работу в лаборатории, необходимо выключить электроплитку, вымыть лабораторную посуду, остатки химических веществ сдать преподавателю на слив, поставить на место штативы, протереть стол,

сдать преподавателю свое рабочее место. После работы тщательно вымыть руки.

1.2 Критерии и контроль чистоты продуктов

Каждое органическое соединение характеризуется постоянными физическими свойствами, которые чаще всего зависят от давления и температуры. Из этих физических свойств наиболее легко определяются температура плавления, температура кипения, показатель преломления и плотность; поэтому в химической литературе, в учебниках, справочниках и специальных таблицах при описании отдельных соединений всегда приводятся эти характерные физические свойства.

Наиболее простой способ доказательства чистоты данного вещества состоит в определении его физических констант и сравнении их с литературными данными.

Чаще всего для выяснения степени чистоты кристаллического вещества достаточно определить температуру его плавления, а для жидкости – определить плотность, температуру кипения и показатель преломления.

Для вновь синтезированных веществ дополнительным критерием чистоты являются результаты элементного анализа, соответствующие теоретическим расчетам. В обоих случаях индивидуальность соединения подтверждается данными тонкослойной хроматографии (ТСХ).

Лабораторная работа № 1

НИТРОБЕНЗОЛ

Количество часов: 4 часа

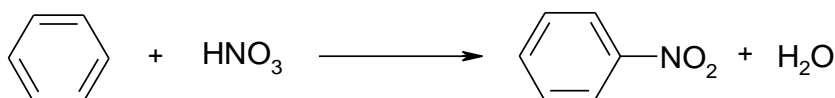
Цель работы: овладеть методикой нитрования ароматических соединений нитрующей смесью.

Задание на выполнение ЛР:

1. Провести нитрование бензола смесью азотной и серной кислот.
2. Определить температуру кипения и коэффициент преломления нитробензола.
3. Измерить УФ спектр нитробензола.
4. Рассчитать теоретический ЯМР ^1H и ^{13}C спектры для нитробензола с использованием пакета программ ACDLabs.
5. Предсказать с помощью пакета программ Pass online биологическую активность нитробензола.

Порядок выполнения работы

Нитробензол получается обработкой бензола нитрующей смесью:



Реактивы

Бензол
Серная кислота (d=1,84)
Азотная кислота (d=1,4)
Хлорид кальция безводный
Сода

3,9 г
11,4 г
7,7 г

Приборы

Колба круглодонная широкогорлая на 250 мл
Стакан толстостенный на 1000 мл
Холодильник обратный
Трубка стеклянная - диаметр 8 мм, длина 50 см
Воронка делительная на 100 мл
Колба коническая на 100 мл
Воронка
Колба перегонная с низкоприсоединенной отводной трубкой на 100 мл
Баня водяная

В круглодонную колбу на 500 мл помещают 7,7 г концентрированной азотной кислоты, к которой при тщательном перемешивании добавляют 11,4 г концентрированной серной кислоты (*примечание 1*). Во время прибавления серной кислоты колбу охлаждают, погружая ее в баню с холодной водой. Колбу закрывают пробкой с термометром, доходящим почти до дна колбы, капельной воронкой емкостью 100 мл и стеклянной трубкой длиной 50 см и диаметром 8 мм, действующей как обратный холодильник. В капельную воронку помещают 3,9 г чистого бензола. Бензол прибавляют постепенно и очень медленно, порциями по 2-3 мл. После прибавления каждой порции бензола содержимое колбы тщательно встряхивают. Каждая прибавляемая порция вызывает появление бурой окраски жидкости. Скорость прибавления бензола должна быть такой, чтобы из колбы не выделялись бурые пары оксидов азота.

Температуру смеси поддерживают около 55 °С (*примечание 2*), что достигается охлаждением колбы холодной водой (под краном или в бане). После добавления всего количества бензола колбу помещают на водяную баню, нагретую до 60 °С (но не выше) и выдерживают при этой температуре 45 мин, причем время от времени ее вынимают из бани и сильно встряхивают, не допуская расслоения реакционной смеси. Затем содержимое колбы выливают в толстостенный стакан с 100 мл холодной воды, и смесь сильно перемешивают для отделения продукта реакции от кислот. После отстаивания смесь кислот сливают как можно более тщательно, а нитробензол переносят в делительную воронку и несколько раз промывают, встряхивая с разбавленным раствором соды до прекращения выделения CO_2 (не закупоривать верхнее отверстие делительной воронки!). После промывки продукт тщательно отделяют и сушат над безводным хлористым кальцием, встряхивая время от времени колбу. Через 0,5 ч жидкость станет совсем прозрачной; ее фильтруют через маленький фильтр в перегонную колбу на 100 мл с низко припаянной отводной трубкой, снабженную термометром и

соединенную с холодильником Либиха (*примечание 3*). Колбу нагревают на воздушной бане или сетке и собирают фракцию, кипящую при температуре 207-211 °С (*примечание 4*). Выход ~80 % от теоретического.

Нитробензол – желтоватая жидкость с т. кип. 210,9 °С, обладающая запахом горького миндаля, растворимая в спирте и эфире, в воде почти не растворимая. Нитробензол ядовит (в особенности его пары!) и вызывает ожоги кожи. При попадании нитробензола на кожу пораженное место нужно обмыть спиртом, а затем теплой водой с мылом.

Внимание!

1. Бензол нитруется легко, однако нежелательно применять для нитрования одну азотную кислоту, чтобы избежать образования большого количества побочных продуктов.
2. Во время нитрования следует тщательно выдерживать заданную температуру, чтобы не допустить образования *m*-динитробензола.
3. Так как пары нитробензола ядовиты, при перегонке следует обращать особенное внимание на герметичность прибора.
4. Нитробензол и другие нитросоединения никогда не следует отгонять «досуха», так как они могут содержать высшие продукты нитрования, которые при перегревании легко самовоспламеняются и даже взрываются. Перегонку нужно прекращать, когда в колбе останется немного жидкости или, когда температура кипения достигнет 214 °С.

Контрольные вопросы:

1. Привести основные области применения нитробензола.
2. Приведите механизм реакции нитрования.
3. Какую роль в процессах нитрования ароматических соединений играет концентрированная серная кислота.
4. Почему следует во время проведения процесса нитрования охлаждать реакционную смесь?

5. Опишите электронный спектр нитробензола. По закону Бугера-Ламберта-Бера рассчитайте десятичный логарифм коэффициента молярного поглощения $\lg \epsilon$.
6. Опишите теоретические спектры ЯМР ^1H и ^{13}C для нитробензола.
7. Опишите схему лабораторной установки.
8. Изложите порядок выполнения работы.

Лабораторная работа № 2

o-, *n*-НИТРОХЛОРБЕНЗОЛ

Количество часов: 4 часа

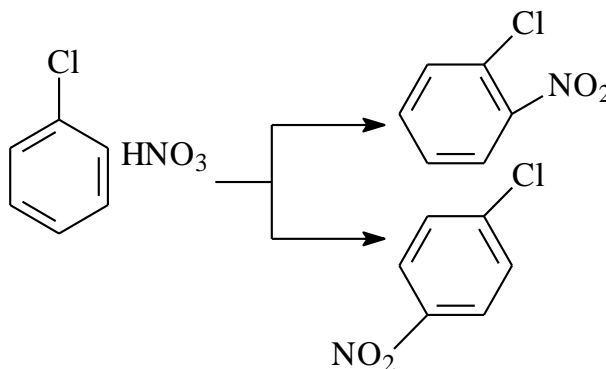
Цель работы: овладеть методикой нитрования галогенароматических соединений азотной кислотой.

Задание на выполнение ЛР:

1. Провести нитрование хлорбензола концентрированной азотной кислотой.
2. Определить температуры плавления и кипения *o*- и *n*-нитрохлорбензола.
3. Измерить УФ спектр *o*- и *n*- нитрохлорбензола.
4. Рассчитать теоретический ЯМР ^1H и ^{13}C спектры для *o*- и *n*-нитрохлорбензола с использованием пакета программ ACDLabs.
5. Предсказать с помощью пакета программ Pass online биологическую активность *o*- и *n*-нитробензола.

Порядок выполнения работы

o- и *n*-Нитрохлорбензол получают при обработке хлорбензола концентрированной азотной кислотой.



Реактивы		Приборы
Хлорбензол	22,5 г	Колба круглодонная на 50 мл
Азотная кислота (d=1,5)	15 г	Стакан химический на 200 мл
Этиловый спирт	75 мл	Дефлегматор
Лед		Воронка Бюхнера
		Колба Бюнзена
		Воздушный холодильник
		Прибор для фракционной

перегонки

В стакан ёмкостью 200 мл, помещенный в вытяжном шкафу, наливают 22,5 г хлорбензола и осторожно, при перемешивании, медленно добавляют 15 г азотной кислоты (*примечание*). Смесь оставляют на 24 ч в холодном месте, затем выливают на лед, причем выделяются *n*-нитрохлорбензол в виде кристаллов и *o*-нитрохлорбензол в виде масла. Кристаллы отделяют декантацией, тщательно фильтруют на воронке Бюхнера и перекристаллизовывают из горячего спирта. Для этого осадок растворяют в возможно малом количестве кипящего спирта; после охлаждения выпадают кристаллы достаточно чистого *n*-нитрохлорбензола.

Оставшееся масло охлаждают льдом до кристаллизации. Для получения чистого *o*-нитрохлорбензола его перегоняют из колбы с дефлегматором, собирая фракцию, кипящую при температуре 244-247 °С.

Выход *n*-нитрохлорбензола составляет 67 % от теоретического, а *o*-нитрохлорбензола 28 %. *n*-Нитрохлорбензол кристаллизуется в виде призм или пластинок с т. пл. 85 °С и т. кип. 242 °С. *o*-Нитрохлорбензол образует иглы с т. пл. 33 °С и т. кип. 245,7 °С. Оба вещества не растворяются в воде, растворяются в спирте и эфире, обладают запахом, напоминающим запах нитробензола, но более острым; они также ядовиты и раздражают кожу.

Примечание: нитрование хлорбензола дает смесь *o*- и *n*-нитрохлорбензолов в отношении приблизительно 1:2.

Контрольные вопросы:

1. Привести основные области применения *o*- и *n*-нитрохлорбензола.
2. Приведите механизм реакции нитрования хлорбензола.
3. Почему следует во время проведения процесса нитрования охлаждать реакционную смесь?
4. Что понимают под термином «декантация»?

5. Опишите электронные спектры *o*- и *n*-нитрохлорбензола: по закону Бугера-Ламберта-Бера рассчитайте десятичный логарифм коэффициента молярного поглощения $\lg \epsilon$.
6. Опишите теоретические спектры ЯМР ^1H и ^{13}C для *o*- и *n*-нитрохлорбензола.
7. Опишите схему лабораторной установки.
8. Изложите порядок выполнения работы.

Лабораторная работа № 3

СИНТЕЗ АНИЛИНА

Количество часов: 4 часа

Цель работы: овладеть методикой восстановления нитробензола до анилина.

Задание на выполнение ЛР:

1. Провести восстановление нитробензола оловом в присутствии концентрированной соляной кислоты до анилина.
2. Определить температуру кипения анилина.
3. Измерить УФ спектр анилина.
4. Рассчитать теоретический ЯМР ^1H и ^{13}C спектры для анилина с использованием пакета программ ACDLabs..
5. Предсказать с помощью пакета программ Pass online биологическую активность анилина.

Порядок выполнения работы



Реактивы		Приборы
Нитробензол	15,4 г	Колба круглодонная на 500 мл
Олово	30 г	Воздушный холодильник
Соляная кислота конц.	67,5 мл	Стакан химический на 500 мл
Едкий натр	37,5 г	Холодильник Либиха
Дистиллированная вода	70 мл	Насадка Вюрца
Хлорид натрия	25 г/100	Аллонж
мл		Приемник
Серный эфир	150 мл	Масляная баня
Едкое кали		Паровик

В круглодонной колбе емкостью 500 мл смешивают 30 г мелкогранулированного олова с 15,4 г нитробензола. К смеси постепенно прибавляют 67,5 мл концентрированной соляной кислоты следующим

образом: сначала прибавляют одну десятую часть соляной кислоты, затем соединяют колбу с обратным воздушным холодильником и взбалтывают. Через короткое время смесь нагревается и вскипает. Колбу охлаждают холодной водой, но так, чтобы реакция не прекратилась совсем. Затем постепенно при постоянном взбалтывании прибавляют оставшуюся соляную кислоту, поддерживая довольно бурное течение реакции. Под конец нагревают смесь в течение часа на водяной бане.

К горячему раствору прибавляют 20 мл воды и затем приливают раствор 37,5 г едкого натра в 50 мл воды до сильнощелочной реакции. Колбу соединяют с прямым холодильником и отгоняют анилин с водяным паром до тех пор, пока дистиллят не станет совершенно прозрачным. К полученному дистилляту прибавляют поваренную соль (из расчета 25 г на 100 мл жидкости), растворяют ее и извлекают анилин диэтиловым эфиром. Эфирный раствор высушивают гранулами твердого едкого кали, и после отгонки эфира перегоняют анилин. Температура кипения чистого анилина 184 °С. Выход 90-100 % от теоретического.

Контрольные вопросы:

1. Привести основные области применения анилина.
2. Почему для очистки анилина применяют перегонку с паром?
3. Опишите электронный спектр анилина: по закону Бугера-Ламберта-Бера рассчитайте десятичный логарифм коэффициента молярного поглощения $\lg \epsilon$.
4. Опишите теоретические спектры ЯМР ^1H и ^{13}C для анилина.
5. Опишите схему лабораторной установки.
6. Изложите порядок выполнения работы.

Лабораторная работа № 4

ЦИКЛОГЕКСЕН

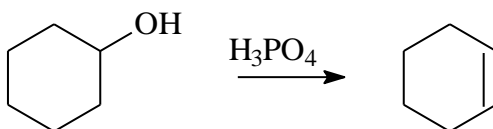
Количество часов: 4 часа

Цель работы: овладеть методикой дегидратации циклогексанола в присутствии концентрированной фосфорной кислотой.

Задание на выполнение ЛР:

1. Провести дегидратацию циклогексанола концентрированной фосфорной кислотой до циклогексена.
2. Определить температуру кипения и коэффициент преломления циклогексена.
3. Измерить УФ и спектр циклогексена,
4. Рассчитать теоретический ЯМР ^1H и ^{13}C спектры для циклогексена с использованием пакета программ ACDLabs. .
5. Предсказать с помощью пакета программ Pass online биологическую активность циклогексена.

Порядок выполнения работы



Реагенты

Циклогексанол	25 мл
Фосфорная кислота 85 %-ая	6 мл
Хлорид натрия насыщенный	10 мл
Карбонат натрия 10 %-ый	5 мл
Сульфат натрия	3 г

Приборы

Колба круглодонная на 100 мл
Термометр 0-100 °С
Холодильник Либиха
Насадка Вюрца
Аллонж
Приемник 2 шт.
Прибор для простой перегонки
Электроплитка
Масляная баня

В колбу Вюрца вместимостью 100 мл помещают 25 мл циклогексанола, 6 мл 85 %-го раствора фосфорной кислоты. Колбу, снабжают термометром, соединяют с нисходящим холодильником, аллонжем и приемником, погруженным в баню со льдом. Колбу нагревают на масляной бане так, чтобы образующийся циклогексен медленно перегонялся. Температура отгоняющихся паров не должна быть выше 90 °С. Перегонку ведут, пока в колбе не останется 5-10 мл жидкости.

К полученному дистилляту прибавляют хлорид натрия до насыщения водного слоя. Органический слой отделяют в делительной воронке, промывают 5 мл 10 %-го раствора карбоната натрия и 10 мл насыщенного хлорида натрия. Циклогексен высушивают сульфатом натрия и перегоняют из колбы с коротким дефлегматором, собирая фракцию в интервале 80-83 °С.

Циклогексен – бесцветная жидкость с неприятным запахом, т. кип. 83 °С; d_4^{20} 0,8110; n_D^{20} 1,4465; легко растворим в этаноле, диэтиловом эфире, бензоле, уксусной кислоте, плохо – в воде. С водой образует азеотропную смесь (90 % циклогексена и 10 % воды), кипящую при 70,8 °С.

Контрольные вопросы:

1. Привести основные области применения циклогексанола и циклогексена.
2. Приведите механизм реакции дегидратации циклогексанола.
3. Для чего при промывке реакционной массы применяют 10 %-й раствор карбоната натрия.
4. Опишите электронный спектр циклогексена, по закону Бугера-Ламберта-Бера рассчитайте десятичный логарифм коэффициента молярного поглощения $lg\epsilon$.
5. Опишите теоретические спектры ЯМР 1H и ^{13}C для циклогексена.
6. Описать схему лабораторной установки.
7. Изложите порядок выполнения работы.

Лабораторная работа № 5
ВЫДЕЛЕНИЕ АБИЕТИНОВОЙ КИСЛОТЫ ИЗ ТАЛЛОВОЙ
КАНИФОЛИ

Количество часов: 8 часов

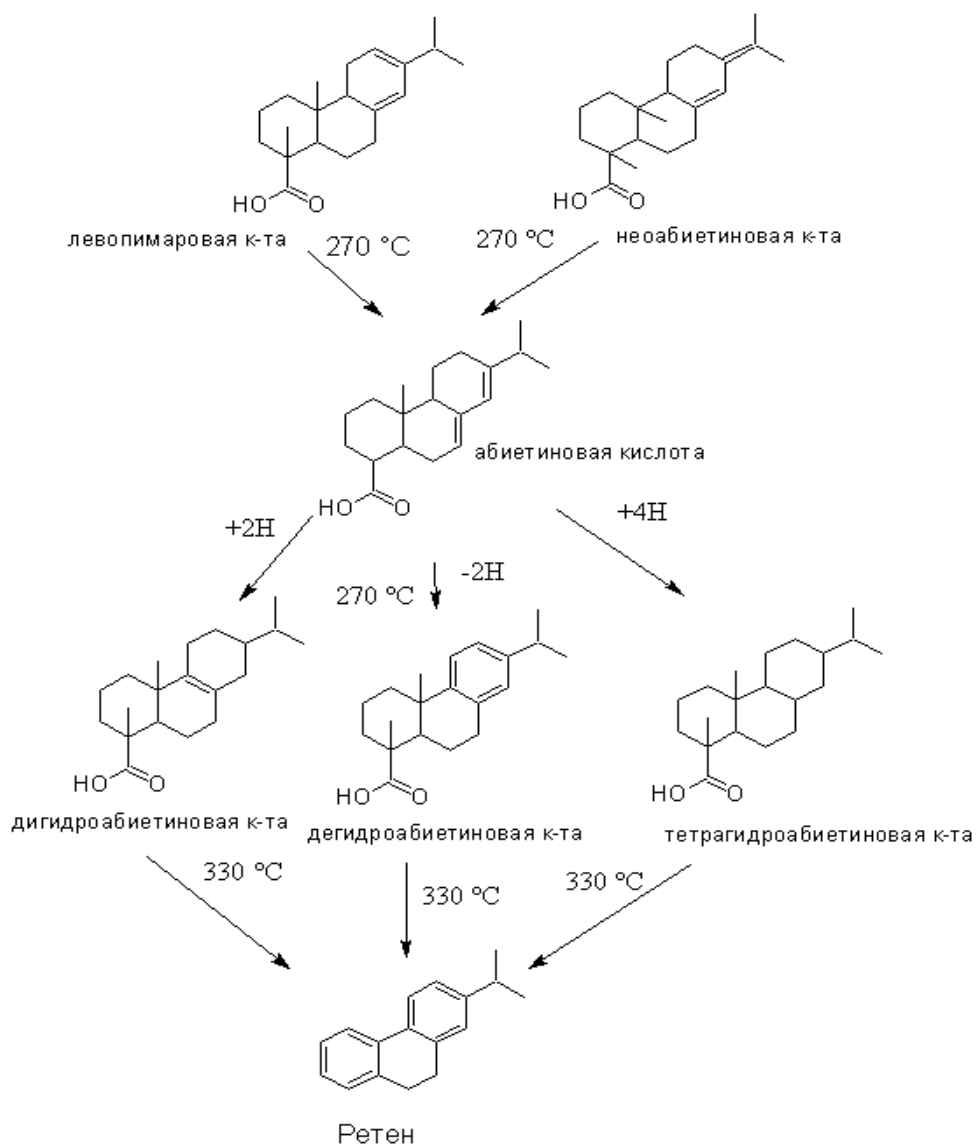
Цель работы: овладеть методикой выделения абиетиновой кислоты (АК) из канифоли.

Задание на выполнение ЛР:

1. Провести изомеризацию смоляных кислот, входящих в состав канифоли под действием концентрированной соляной кислоты; выделить из полученного изомеризата АК путем получения диэтиламмониевой соли с последующим разложением этой соли концентрированной уксусной кислотой.
2. Методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) подтвердить чистоту продуктов.
3. Определить температуру плавления АК.
4. Измерить УФ спектр АК и канифоли, рассчитать логарифмы коэффициента молярного поглощения $\lg \epsilon$.
5. Рассчитать теоретические ЯМР ^1H и ^{13}C спектры для АК и канифоли.
6. Предсказать с помощью пакета программ Pass online биологическую активность АК и диэтиламмониевой соли АК.

Порядок выполнения работы

Диспропорционирование абиетиновой кислоты



I стадия. *Изомеризация канифоли*

	Реактивы
Канифоль	25 г
Этанол	75 мл
Соляная кислота	5 мл
Аргон	

Приборы
Колба круглодонная на 250 мл
Обратный холодильник
Термометр, 0÷100°С
Склянка Алифанова или Дрекслея
Газоотводная трубка
Электроплитка
Водяная баня

В трехгорлую колбу, снабженную, термометром, обратным холодильником и газоотводной трубкой, помещают 25 г предварительно измельченной талловой канифоли, затем при интенсивном перемешивании добавляют 75 мл этанола и 5 мл концентрированной соляной кислоты под аргоновой подушкой (*примечание*). Реакционную смесь кипятят в течение 2 ч. По окончании процесса изомеризации реакционная масса становится прозрачной, причем цвет раствора изменяется от светло-желтого до темно-желтых оттенков.

Внимание!

Для контроля за скоростью потока газа используют склянку Алифанова, соединенную с системой через обратный холодильник.

II стадия. *Отгонка смеси растворителей с водяным паром*

Реактивы	Приборы
Реакционная масса I стадии	Колба круглодонная на 500 мл
	Холодильник Либиха
	Аллонж
	Приемник на 250 мл
	Электроплитка
	Паровик

Горячий изомеризат переносят в круглодонную колбу на 500 мл и отгоняют с водяным паром смесь этанола соляной кислоты. По мере удаления из системы растворителя начинается выделение твердой фазы изомеризата в виде воскообразных комочков желтого цвета. По окончании отгонки установку разбирают, оставшийся растворитель декантируют.

III стадия. *Промывка изомеризованной канифоли от остатков соляной кислоты и этилового спирта*

Реактивы	Приборы
Изомеризованная канифоль	Делительная воронка на 500 мл
Диэтиловый эфир 100 мл	Химический стакан на 250 мл
Дистиллированная вода 180 мл	Колба Эрленмейера на 100 мл
Сульфат магния прокаленный 3 г	Стеклянная пробка

Отфильтрованную твердую фазу (канифоль) - продукт II стадии, переносят в делительную воронку, и добавляют 100 мл диэтилового эфира. Воронку осторожно встряхивают несколько раз до полного растворения изомеризата, после чего эфирный раствор промывают 60 мл дистиллированной воды. Когда эмульсия расслоится водную фазу (нижний слой) отделяют и повторяют операцию промывки свежей порцией воды еще 2 раза, затем промытый эфирный раствор изомеризованной канифоли переносят в колбу Эрленмейера, засыпают сульфат магния и сушат.

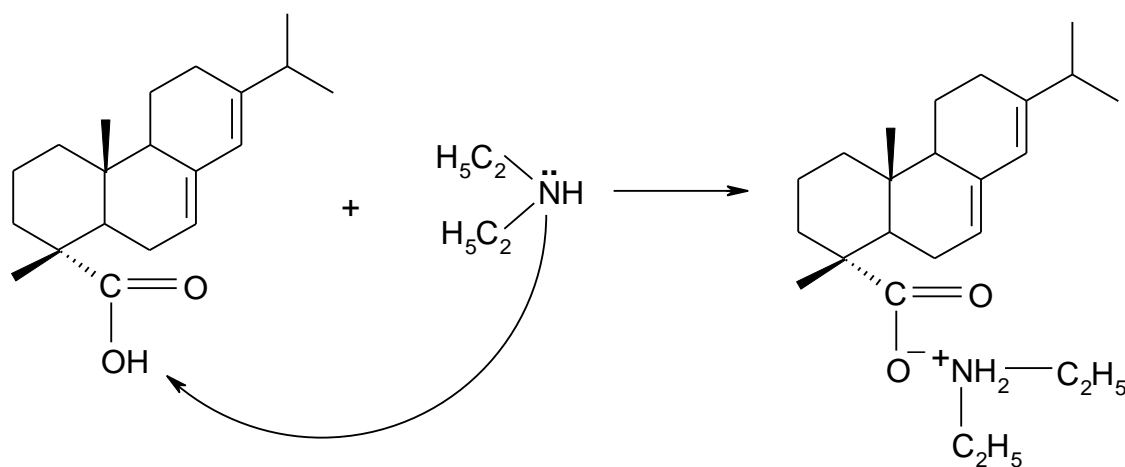
IV стадия. Очистка диэтиламина методом простой перегонки

Реактивы
Диэтиламин 50 мл

Приборы
Колба круглодонная на 100 мл
Термометр, 0-150 °С
Холодильник Либиха
Насадка Вюрца
Аллонж
Приемник на 100 мл
Электроплитка
Водяная баня

В круглодонную колбу на 100 мл помещают 50 мл диэтиламина и проводят простую перегонку. Диметиламин – бесцветная жидкость с резким запахом, т. кип. 55,5 °С, n_D^{20} 1,3860.

V стадия. Получение абиетата диэтиламмония



Реагенты		Приборы
Высушенная канифоль		Колба Эрленмейера на 100 мл
Диэтиламин	8 мл	Коническая воронка
		Стеклянная палочка

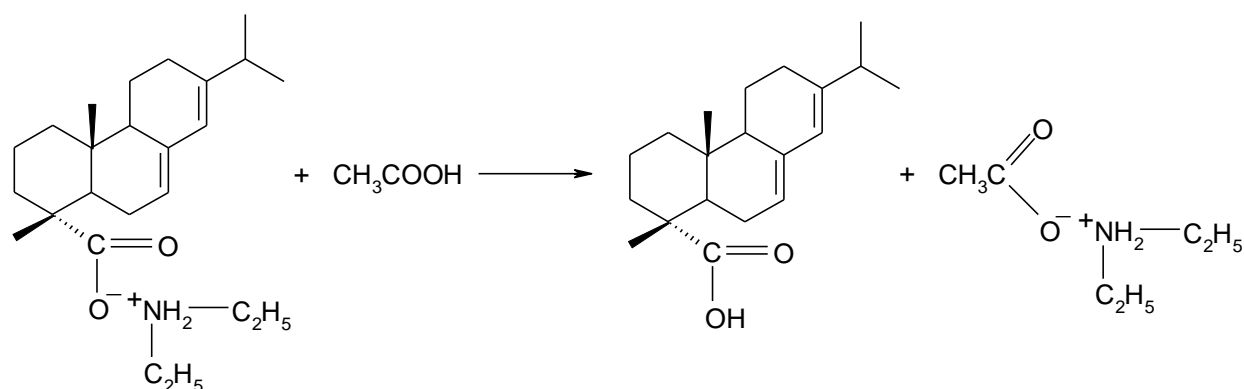
После высушивания эфирный раствор изомеризованной канифоли (продукт III стадии) отделяют от сульфата магния, затем к раствору осторожно добавляют 8 мл свежеперегнанного диэтиламина и перемешивают стеклянной палочкой, после чего колбу закрывают пробкой и охлаждают. Через несколько часов из раствора начинают выпадать игольчатые кристаллы абиетата диэтиламмония.

VI стадия. *Выделение и очистка абиетата диэтиламина*

Реактивы		Приборы
Абиеатат диэтиламмония		Колба плоскодонная коническая на 250 мл
Гексан охлажденный	150 мл	Химический стакан на 250 мл
Петролейный эфир (фр. 70 ÷ 100 °С)		Воронка Бюхнера
		Колба Бунзена
		Фильтр Шотта
		Электроплитка

Выпавшие кристаллы абиетата диэтиламмония (продукт V стадии) отфильтровывают на воронки Бюхнера и промывают небольшими порциями охлажденного гексана до исчезновения запаха диэтиламина. Затем промытую соль переносят в плоскодонную коническую колбу и перекристаллизовывают из горячего петролейного эфира не менее 3-х раз, после чего очищенный абиеатат диэтиламмония отделяют от маточного раствора на фильтре Шотта, промывают охлажденным гексаном и сушат в вакуум-эксикаторе над P₂O₅.

VII стадия. Получение абиетиновой кислоты путем разложения абиетата диэтиламмония



Реактивы

Высушенный абиетат диэтиламмония
 Дистиллированная вода 700 мл
 Ледяная уксусная кислота

Приборы

Химический стакан на 750 мл
 Мерный стакан на на 500 мл
 Цилиндр на 50 мл
 Воронка Бюхнера
 Колба Бунзена
 Механическая мешалка

Высушенную соль абиетата диэтиламмония (продукт VI стадии) взвешивают и рассчитывают по уравнению реакции необходимое количество ледяной уксусной кислоты. Затем соль переносят в химический стакан и перемешивают механической мешалкой до полного ее растворения, после чего медленно небольшими порциями добавляют ледяную уксусную кислоту. Выпадает белый творожистый осадок абиетиновой кислоты, которую отфильтровывают на воронке Бюхнера, промывают дистиллированной водой и сушат с начала на воздухе, затем в вакуум-эксикаторе над P_2O_5 .

VIII стадия. Перекристаллизация абиетиновой кислоты

Реактивы

Сырец абиетиновой кислоты
 Этанол

Приборы

Колба плоскодонная коническая на 100 мл
 Обратный холодильник
 Химический стакан на 250 мл
 Мерный стакан на на 100 мл
 Коническая воронка

Фильтр Шотта
Электроплитка
Водяная баня

Высушенную абиетиновую кислоту (продукт VII стадии) переносят в плоскодонную коническую колбу на 100 мл, снабженную холодильником, добавляют небольшое количество этанола и начинают нагревать на водяной бане, постепенно добавляя этанол через обратный холодильник до полного растворения всей кислоты. Затем горячий раствор фильтруют через складчатый фильтр в химический стакан. Выпадают белые кристаллы абиетиновой кислоты, которую отфильтровывают на фильтре Шотта, промывают дистиллированной водой и сушат с начала на воздухе, затем в вакуум-эксикаторе над P_2O_5 .

Контрольные вопросы:

1. Привести основные области применения канифоли и ее производных.
2. Приведите схему диспропорционирования смоляных кислот ряда абиетана в АК при нагревании в присутствии кислоты.
3. Для чего при изомеризации канифоли применяется аргон?
4. Опишите электронный спектр АК, по закону Бугера-Ламберта-Бера рассчитайте десятичный логарифм коэффициента молярного поглощения $lg\epsilon$.
5. Опишите теоретические спектры ЯМР 1H и ^{13}C для АК и канифоли.
6. Опишите процедуру выделения АК из канифоли.

Лабораторная работа № 6 1,3- И 1,6-ДИНИТРОКАРБАЗОЛ

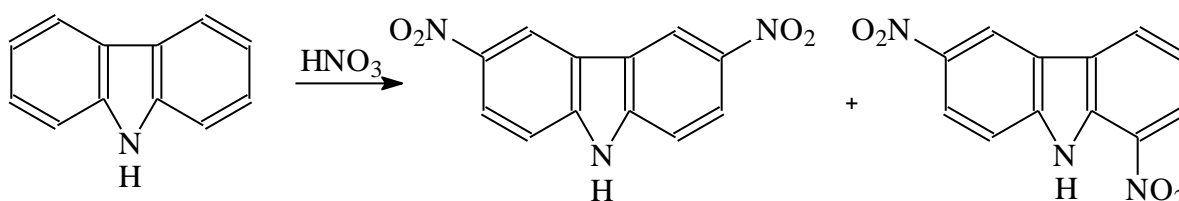
Количество часов: 4 часов

Цель работы: овладеть методикой нитрования конденсированных циклически соединений на примере карбазола.

Задание на выполнение ЛР:

1. Провести нитрование карбазола в среде уксусной кислоты с помощью HNO_3 .
2. Разделить смесь нитрокарбазолов на 1,3- и 1,6-изомеры методом дробной кристаллизации.
3. Методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) подтвердить чистоту продуктов.
4. Определить температуры плавления изомерных нитрокарбазолов.
5. Измерить УФ спектр нитрокарбазолов, рассчитать логарифмы коэффициента молярного поглощения $\lg \epsilon$.
6. Рассчитать теоретические ЯМР ^1H и ^{13}C спектры для нитрокарбазолов с использованием пакета программ ACDLabs.
7. Предсказать с помощью пакета программ Pass online биологическую активность нитрокарбазолов.

Порядок выполнения работы



Реактивы

Приборы

Карбазол	20 г	Колба круглодонная на 500 мл
Ледяная уксусная кислота	250 мл	Обратный холодильник
Азотная кислота 70 %- я	17 мл	Капельная воронка на 25 мл

1,4-Диоксан	310 мл	Термометр 0-150°C
Дистиллированная вода	200 мл	Колба Бунзена
		Воронка Бюхнера
		Механическая мешалка
		Электроплитка
		Масляная баня

3,6-Динитрокарбазол. К 20 г карбазола в 100 мл ледяной уксусной кислоты при 85 °С прикапывают 17 мл 70 %-й азотной кислоты с такой скоростью, чтобы температура реакционной массы держалась в интервале 85-87 °С. После введения всей кислоты температуру в колбе поднимают до 95°C и выдерживают 4 ч. Полученную смесь 1,6- и 3,6-динитрокарбазолов отфильтровывают под вакуумом, промывают 150 мл ледяной уксусной кислоты, затем водой до нейтральной реакции и сушат на воздухе. Полученную смесь изомеров кипятят в 200 мл 1,4-диоксана 1 ч. Не растворившийся в 1,4-диоксане продукт отфильтровывают, промывают 1,4-диоксаном, смешивают со 100 мл 1,4-диоксана и повторяют описанную операцию. Остаток, не растворимый в 1,4-диоксане после двойной обработки, представляет собой 3,6-динитрокарбазол. Выход 3,6-динитрокарбазола составляет 51 %, т.пл. 379-381 °С, R_f 0,42. По литературным данным т. пл. 386-387°C.

Смесь изомерных 3,6- и 1,6-динитрокарбазолов разделяют способом, основанном на их различной растворимости в 1,4-диоксане. Так, 1,6-динитрокарбазол переходит в раствор, из которого его упаривают в вакууме. Выход 3,6-динитрокарбазола составляет 51 %, а 1,6-динитрокарбазола – 40 %, чистота полученных соединений подтверждают методом ТСХ.

1,6-Динитрокарбазол получают путем отгонки 1,4-диоксана в виде желто-оранжевых кристаллов. Выход 1,6-динитрокарбазола составляет 40 %, т.пл. 342-344 °С. R_f = 0,51. По литературным данным т. пл. 344-346 °С (испр. из нитробензола).

Контрольные вопросы:

1. Привести основные области применения карбазола и его производных.
2. Почему при нитровании температура реакционной массы не должна превышать 85-87 °С?
3. Опишите электронные спектры 1,3- и 1,6-динитрокарбазолов, по закону Бугера-Ламберта-Бера рассчитайте десятичные логарифмы коэффициентов молярного поглощения $\lg \epsilon$.
4. Опишите теоретические спектры ЯМР ^1H и ^{13}C для 1,3- и 1,6-динитрокарбазолов
5. Описать процедуру дробной кристаллизации 1,3- и 1,6-динитрокарбазолов.
6. Изложите порядок выполнения работы.

Лабораторная работа № 7

1,3- И 1,6-ДИАМИНОКАРБАЗОЛ

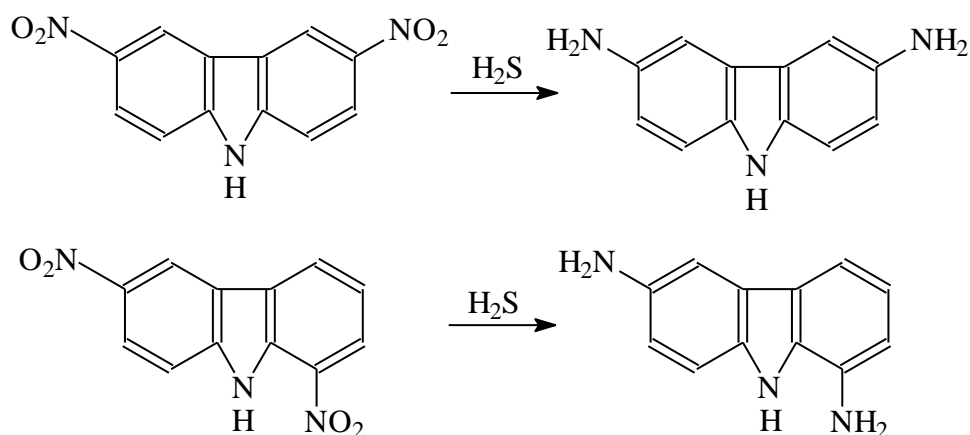
Количество часов: 4 часов

Цель работы: овладеть методикой восстановления нитрогруппы нитрокарбазолов с помощью сульфида натрия.

Задание на выполнение ЛР:

1. Провести восстановление нитрогруппы карбазолов сульфидом натрия.
2. Определить температуры плавления изомерных аминокарбазолов.
3. Проверить чистоту диаминокарбазола методом ТСХ.
4. Измерить УФ спектры 1,6-диаминокарбазола, рассчитать логарифмы коэффициентов молярного поглощения $\lg \epsilon$.
5. Рассчитать теоретические ЯМР ^1H и ^{13}C спектры для 1,6-диаминокарбазолов с помощью пакета программ ACDLabs..
6. Предсказать с помощью пакета программ Pass online биологическую активность

Порядок выполнения работы



Реагенты

1,3- или 1,6-Динитрокарбазол	25,7 г
Сульфид натрия	96 г
Медный купорос водный раствор	5 мл
Соляная кислота	30 мл
Активированный уголь,	
ОУ марка «А»	5 г

Приборы

Колба круглодонная на 1000 мл
Обратный холодильник
Термометр, 0-150 °С
Стаканы на 100 и 500 мл
Цилиндр на 50 мл

Аммиак водный около	10 мл	Колба Бунзена
Дистиллированная вода	900 мл	Воронка Бюхнера
		Механическая мешалка
		Электроплитка
		Масляная баня

В трехгорлую колбу емкостью 1 л, снабженную обратным холодильником и мешалкой, загружают раствор 96 г сульфида натрия в 200 мл воды и нагревают до 100 °С, после чего добавляют суспензию 25,7 г 1,3- или 1,6-динитрокарбазола в 160 мл воды. Реакционную массу выдерживают при 100 °С в течение 1 ч и охлаждают. Осадок отфильтровывают и промывают водой до полного отсутствия сульфид-иона в промывных водах. Остаток растворяют при нагревании в 30 мл концентрированной соляной кислоты и 400 мл воды, кипятят с активированным углем, фильтрат охлаждают и нейтрализуют водным аммиаком до нейтральной реакции. Осадок отделяют, промывают водой и сушат на воздухе. Выход 1,6-диаминокарбазола составляет 66 % от теоретического.

Контрольные вопросы:

1. Привести основные области применения карбазола и его производных.
2. Какие еще восстанавливающие агенты используются для перевода нитрогруппы в аминогруппу?
3. Как определяется отсутствие в промывных водах сульфид-аниона?
4. Опишите электронные спектры 1,3- и 1,6-диаминокарбазолов, по закону Бугера-Ламберта-Бера рассчитайте десятичные логарифмы коэффициентов молярного поглощения $\lg \epsilon$.
5. Опишите теоретические спектры ЯМР ^1H и ^{13}C для 1,6-диаминокарбазола.
6. Изложите порядок выполнения работы.

Лабораторная работа № 8

ДИАЗОТИРОВАНИЕ ДИАМИНОКАРБАЗОЛОВ

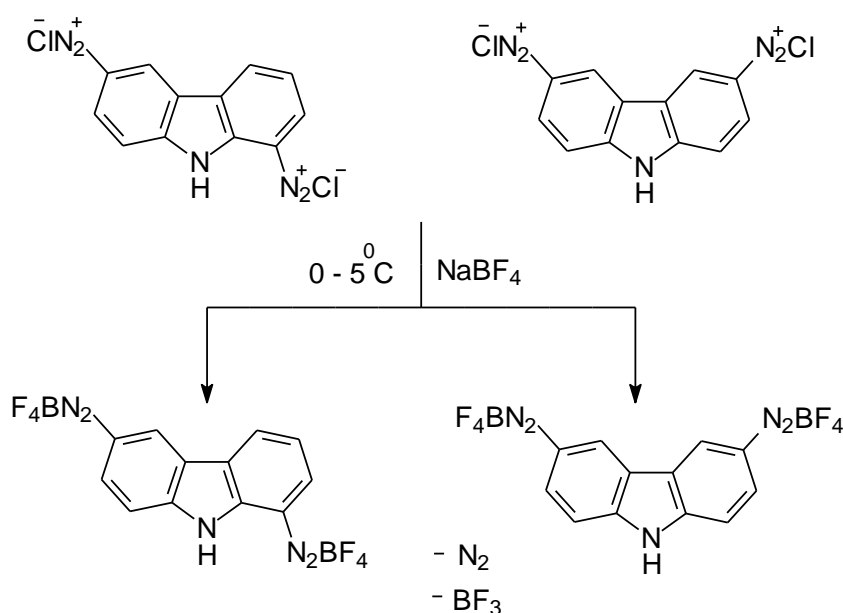
Количество часов: 4 часов

Цель работы: овладеть методикой диазотирования диаминопроизводных.

Задание на выполнение ЛР:

1. Провести диазотирование диаминокарбазола нитритом натрия в среде соляной кислоты.
2. Получить бис(тетрафторборатдiazоний) карбазол обработкой бис-(хлориддiazоний)карбазола тетрафторборатом натрия.
3. Измерить ИК спектр бис(тетрафторборатдiazоний) карбазолов.
4. Рассчитать теоретические ЯМР ^1H и ^{13}C спектры для бис-(тетрафторборатдiazоний) карбазолов с помощью пакета программ ACDLabs..

Порядок выполнения работы



Реагенты	Приборы
1,3- или 1,6-Динитрокарбазол	2,54 г Химический стакан на 250 мл
Нитрит натрия	3 г Термометр - 10-100°C
Соляная кислота	7 мл Цилиндр на 50 мл
Дистиллированная вода	70 мл Фильтр Шотта
Тетрафторборат натрия	5 г Механическая мешалка

Лед

Ледяная баня

В химическом стакане на 250 мл растворяют 2,54 г диаминокарбазола в 7 мл соляной кислоты и 27 мл воды и отфильтровывают через коническую воронку с бумажным фильтром. К полученному раствору при $0 \div +5$ °С и прикапывают раствор нитрита натрия (3 г в 20 мл воды), затем смесь выдерживают в течение 40 мин и отфильтровывают от механических примесей, в результате получают раствор бис(хлориддiazоний)карбазола.

Полученный раствор бис(хлориддiazоний)карбазола охлаждают до +5 °С и добавляют 2 г тетрафторбората натрия в виде 40 %-го раствора в воде, смесь выдерживают в течение 30 мин при перемешивании. Выпавший осадок бис(тетрафторборатдiazоний)карбазола (коричневого цвета) отфильтровывают на фильтре Шотта, промывают небольшим количеством ледяной воды и оставляют сушиться на воздухе.

Контрольные вопросы:

1. Привести основные области применения карбазола и его производных.
2. Какие еще восстанавливающие агенты используются для перевода нитрогруппы в аминогруппу?
3. Как определяется отсутствие в промывных водах сульфид-аниона?
4. Опишите электронные спектры 1,3- и 1,6-динитрокарбазолов, по закону Бугера-Ламберта-Бера рассчитайте десятичные логарифмы коэффициентов молярного поглощения $\lg \epsilon$.
5. Опишите теоретические спектры ЯМР ^1H и ^{13}C для 1,3- и 1,6-динитрокарбазолов
6. Описать процедуру дробной кристаллизации 1,3- и 1,6-динитрокарбазолов.

СПИСОК ОСНОВНОЙ И ДОПОЛНИТЕЛЬНОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная литература

1. [Электронный ресурс] Носова Э.В. Химия гетероциклических биологически активных веществ: учебное пособие: <http://www.iprbookshop.ru/68512.html>
2. [Электронный ресурс] Носова Э.В. Химия карбоциклических биологически активных веществ: учебное пособие/ Носова Э.В., Мочульская Н.Н.: <http://www.iprbookshop.ru/68513.html>
3. Болотов В.М. Химия биологически активных соединений (Теория и практика)
[Электронный ресурс]: учебное пособие/ Болотов В.М., Комарова Е.В., Саввин П.Н. Воронеж: Воронежский государственный университет инженерных технологий, 2018: <http://www.iprbookshop.ru/76440.html>
4. Инструментальный анализ биологически активных веществ и лекарственных средств [Электронный ресурс]: учебное пособие/ Г.Б. Слепченко и др. - Томск: Томский политехнический университет. - 2015.: <http://www.iprbookshop.ru/55191.html>

Дополнительная литература:

1. Титце Л., Айхер Т. Препаративная органическая химия. М.: Изд-во Мир, 1999. – 704 с. ИБК СПбПУ. шифр хранения: 7353312.
2. Краткий справочник физико-химических величин / под ред. А.А. Равделя и А.М. Понамаревой. – СПб.: Иван Федоров, 2003. – 240 с.
3. А. Гордон, Р. Форд. Спутник Химика: Справочник. М.: Мир, 1976. – 542 с.
4. Лазурьевский Л.В., Терентьева И.В., Шамшуриной А.А. Практические работы по химии природных соединений. Вып. 1. – М.: Высшая школа, 1961. – С. 102–103.