

放射線防護および増感効果に関する研究 その 1

— S-Alkylcysteine およびその Hydantoin 誘導体の合成について —

* 川崎医療短期大学 臨床検査科 **川崎医療短期大学 放射線技術科

佐藤 彰一* 西村 明久** 下田 健治*

小郷 正則* 紺野 勝信** 上田 智*

(昭和58年9月16日受理)

Studies of Radioprotective and Radiosensitizing Effects Part I
Synthesis of S-Alkylcysteines and their Hydantoin derivatives

Shoichi SATO*, Akihisa NISHIMURA**, Kenji SHIMODA*

Masanori OGO*, Katsunobu KONNO**, Satoshi UEDA*

Department of Medical Technology*, Radiological Technology**, Kawasaki College of Allied Health
Professions

Kurashiki 701-01, Japan

(Received on Sep. 16, 1983)

Key words : Hydantoin 誘導体 Cysteine 誘導体 放射線防護剤

概 要

合硫化合物の放射線防護および増感効果を検討する前段階として S-Alkylcysteine 3種 (S-Propylcysteine, S-Butylcysteine および S-Allylcysteine), 5-Alkylthiomethylhydantoin 3種 (5-Propylthiomethylhydantoin, 5-Butylthiomethylhydantoin および 5-Allylthiomethylhydantoin) および 5-Propylthiomethyl-5-methylhydantoin を合成した。さらに, MS, IR および NMR スペクトルを用い各化合物の確認同定を行った。

はじめに

S-Alkylcysteine およびその Hydantoin 誘導体の γ 線照射による E. Coli の生存率に関する田原ら¹⁾の報告によれば, 遊離の含硫アミノ酸より Hydantoin 誘導体のほうが防護効果が大きいという。これらの Degradation mechanism については西村ら²⁾より報告されて

いる。また、西村ら³⁾は S-Alkylcysteine およびその Hydantoin 誘導体のマウスへの γ 線照射に対する防護増感効果について検討し、Hydantoin 誘導体とくに 5-Allylthiomethyl-5-methylhydantoin の防護作用が非常に大きいと報告している。そこで我々はこれら興味ある化合物を用いた防護および増感効果の検討を行う前段階として、これらの化合物、S-Alkylcysteine [I]、およびその Hydantoin 誘導体 [III]、さらに 5-Propylthiomethyl-5-methylhydantoin [V] の合成を試みた。5-Alkylthiomethylhydantoin [III] の合成については Dakin ら⁴⁾の方法を応用した田原ら¹⁾および水谷ら⁵⁾の方法の反応条件を検討することにより合成し得た(図1)。さらに Strecker 合成を応用した田原ら⁶⁾の方法を検討し、5-Propylthiomethyl-5-methylhydantoin [V] を合成した(図2)。

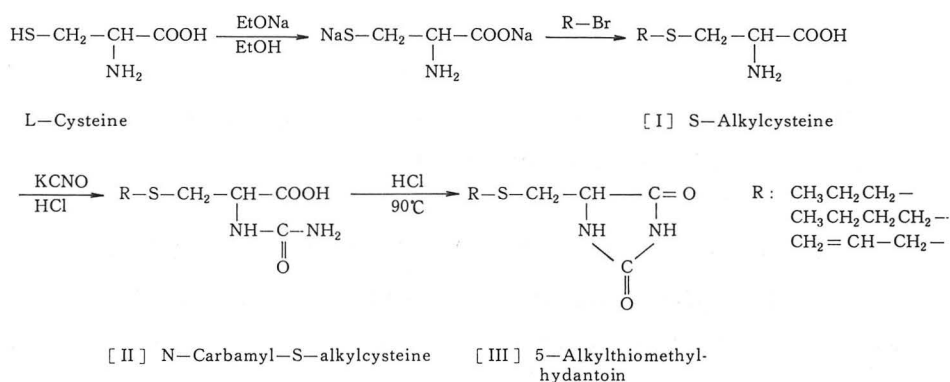


Fig. 1 Synthetic route of 5-Alkyl and 5-Alkenylhydantoin

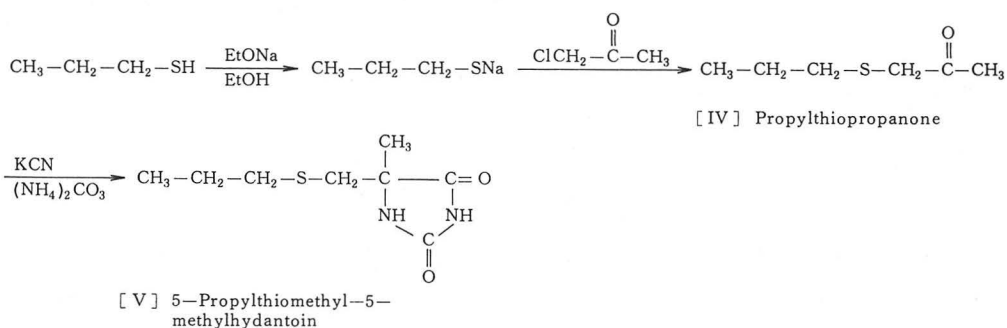


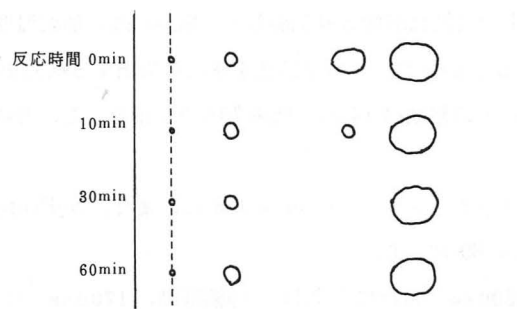
Fig. 2 Synthetic route of 5-Propylthiomethyl-5-methylhydantoin

合成法および検討

1 S-Propylcysteine

無水 Ethanol 500 ml に金属 Na 10 g を加え、Sodium ethylate ethanol 液を調製した。これに L-Cysteine 塩酸塩 17.5 g (0.1 mol) を加え、さらに 1-Bromopropane 12.3 g (0.1-mol) を約10分間で滴下した。反応液が粥状であるので反応終了時の判別が困難なため、TLC

(n-Butanol : HOAc : H₂O = 3 : 1 : 1) で経時的に反応を観察し、図3のような結果を得たので反応時間は30分間とした。



(n-Butyl alcohol : Acetic acid : H₂O = 3 : 1 : 1)
呈色試薬 : 0.2% Ninhydrin butanol solution

Fig. 3 On the effective reaction time of synthesis of S-Propylcysteine with Silicagel TLC

また、TLC では Cysteine 中の不純物である Cystine の Spot も Rf 値 0.17 にみられた。この反応液に臭化アンモニウム 15 g を加え中和し、減圧乾燥させ固型物を得た。これを少量の水で懸濁させ、吸引ろ過をして S-Propylcysteine の粗結晶 14.1 g (収率 86.5%) を得た。再結晶はエタノール水溶液で行った。

合成した S-Propylcysteine (MW 163) の MS スペクトルは図4に示すように分子イオンピークが予想される m/e 163 にみられた。また、フラグメントイオンピークにおける最大ピーク m/e 89 は $[\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2-\overset{+}{\text{S}}=\text{CH}_2]$ と考えられ、S-Propylcysteine を合成し得たことを確認した。

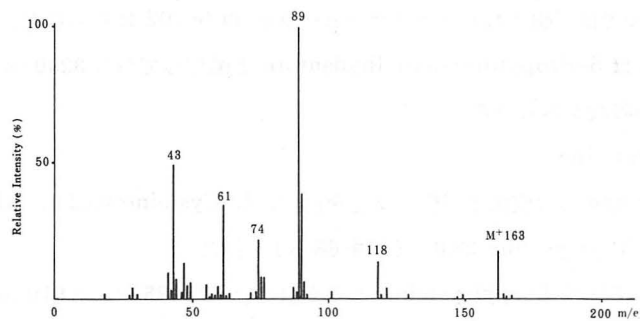


Fig. 4 MS Spectra of S-Propylcysteine

さらに IR スペクトルでも 1580, 1405 cm⁻¹ に COO⁻ の C=O に由来する伸縮振動の吸収, 1480 cm⁻¹ に -NH₃⁺ による変角振動の吸収がみられた。

2 5-Propylthiomethylhydantoin

シアン酸カリウム 9.7 g (0.12 mol) を水 100 ml に溶解し、S-Propylcysteine 16.3 g (0.1

mol) を加え攪拌した。これに 10% HCl 水溶液を滴下し、生じる沈殿量が最も多くなる点 (約 150 ml) でやめ吸引ろ過を行い、N-Carbamyl-S-Propylcysteine の結晶を得た。ついでこの結晶を 10% HCl 水溶液に溶解させ加温した。加温時間、加温温度を検討してみた結果、90°C、20 分が最も収率が高かった。この反応液を水冷し析出する結晶を吸引ろ過し、5-Propylthiomethylhydantoin の粗結晶 14.9 g (収率 79%) を得た。この再結晶にはエタノール水溶液を用いた。

MS スペクトルでは分子イオンピークが m/e 188 に、また、S-Propylcysteine の場合と同様に最大ピークが m/e 89 にみられた。

IR スペクトルでは 3200 cm^{-1} 付近に -NH の伸縮振動、 1700 cm^{-1} に Hydantoin 環中の C=O に由来する伸縮振動がみられたことより 5-Propylthiomethylhydantoin であることを確認した。

3 S-Butylcysteine

S-Propylcysteine 合成と同様な反応条件で合成し、L-Cysteine 8.8 g, 1-Bromobutane 6.85 g より S-Butylcysteine 7.3 g (収率 82%) を得た。

MS スペクトルでは分子イオンピークが m/e 177 にみられ、フラグメントイオンピークが m/e 142, 103, 61 などにみられた。

また、IR スペクトルは S-Propylcysteine とほぼ同様に $1580, 1480, 1405\text{ cm}^{-1}$ などに吸収がみられ、MS スペクトルと同様に S-Butylcysteine であることを示唆した。

4 5-Butylthiomethylhydantoin

5-Propylthiomethylhydantoin の場合と同様の操作で S-Butylcysteine 8.85 g より 5-Butylthiomethylhydantoin 7.9 g (収率 78%) を得た。

MS スペクトルでは予想される分子イオンピークが m/e 202 にみられた。

IR スペクトルは 5-Propylthiomethylhydantoin と酷似しており 3200 cm^{-1} 付近および 1705 cm^{-1} などの吸収がみられる。

5 S-Allylcysteine

S-Propylcysteine の合成法と同様の反応を行い、L-Cysteine 35.2 g, Allylbromide 17.4 ml より S-Allylcysteine 22.0 g (収率 68%) を得た。

IR スペクトルでは S-Propylcysteine とよく似ているが 985 および 910 cm^{-1} に末端ビニル基による吸収がみられた。また MS スペクトルでは S-Propylcysteine より分子量が 2 小さいため分子イオンピークが m/e 161 にみられた。しかし、最大ピークは m/e 41 であった。

6 5-Allylthiomethylhydantoin

5-Propylthiomethylhydantoin の合成法と同様の反応を行い、S-Allylcysteine 16.1 g より 5-Allylthiomethylhydantoin 11.0 g (収率 61%) を得た。この反応の中間体である N-Carbamyl-S-Allylcysteine は水に非常によくとける性質を示した。

MS スペクトルでは分子イオンピークが m/e 186 にみられ、さらに S-Allylcysteine と

同様に m/e 87 ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2-\overset{\oplus}{\text{S}}=\text{CH}_2$) のピークがみられ 5-Allylthiomethylhydantoin であることを確認した。

7 5-Propylthiomethyl-5-methylhydantoin

無水 Ethanol 20 ml に金属 Na 0.6 g を加え, Sodium ethylate ethanol 溶液を調製し, 氷水浴中で Propylmercaptane 1.9 g を加え, さらに Chloroacetone 2.3 g を約30分で滴下した。溶液は淡黄色を呈し, NaCl の沈殿を生じた。これを冷暗所に一夜放置後水を加え NaCl を溶解し, エーテル抽出を行った。エーテルを減圧下で除去し, 淡黄色の油状物 S-Propylthiopropionone 2.43 g (収率74%) を得た。

ついで, この Propylthiopropionone 2.0 g を 80% Ethanol 水溶液 20 ml に溶解し, シアン化カリウム 1.22 g を加え, 結晶が完全に溶解するまで攪拌した。これに炭酸アンモニウム 5.4 g を加え 65°C で 4 時間, 85°C で 1 時間加温した。Ethanol を減圧下で除去し茶褐色油状物 4.0 g を得た。田原らはこれに酢酸エチルを加え, 酢酸エチル可溶性の不純物を除去しているが, TLC により酢酸エチル相にかなり主成分が移行していることを確認したので, 我々はシリカゲル溶出クロマト (5% Methanol Chloroform 溶液) を用い分離精製を行った。その結果 5-Propylthiomethyl-5-methylhydantoin の白色結晶 1.95 g (収率61%) を得た。

MS スペクトルでは予想される分子イオンピークが m/e 202 にみられた。その他 5-Propylthiomethylhydantoin と同様に m/e 89, 61, 43 などにピークが観測された。

また, 重水中の NMR は図 5 に示すように 0.92 ppm に a の CH_3 の 3H が triplet ($J=7$ Hz), 1.55 ppm に b の CH_2 の 2H が quartet ($J=7$ Hz), 2.59 ppm に c の CH_2 の 2H が triplet ($J=7$ Hz) と Propyl 基 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2-$ の存在が証明される。さらに 1.46 ppm に e の CH_3 の 3H が singlet, 2.95 ppm に d の CH_2 の 2H が singlet で観測され 5-Propyl-

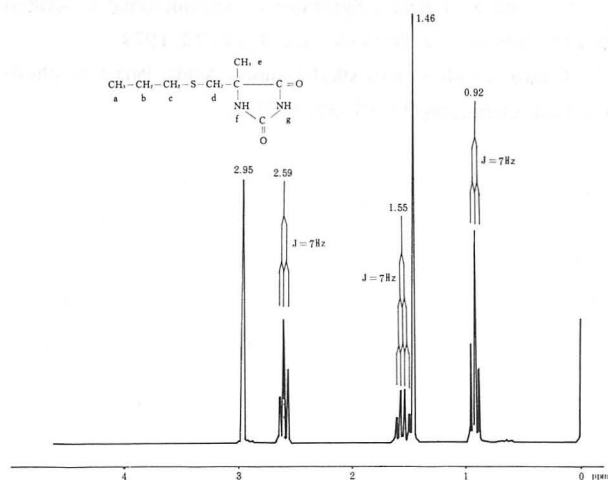


Fig. 5 NMR Spectra of 5-Propylthiomethyl-5-methylhydantoin in D_2O

thiomethyl-5-methylhydantoin の構造を確認することができた。なお、重水中での測定のため f および g の NH の H は重水素に置換され、ピークはみられなかった。

結 論

S-Alkylcysteine 3 種 (S-Propylcysteine, S-Butylcysteine, および S-Allylcysteine), 5-Alkylthiomethylhydantoin 3 種 (5-Propylthiomethylhydantoin, 5-Butylthiomethylhydantoin および 5-Allylthiomethylhydantoin) および 5-Propylthiomethyl-5-methylhydantoin を合成し, MS, IR, および NMR 各スペクトルでその構造を確認同定した。今後これら合成試薬を用いて放射線に対する防護および増感効果の検討を行ってきたい。

謝 辞

この研究にあたり終始適切なる御助言をいただいた北海道大学農学部農芸化学科の西村弘行先生に深く感謝致します。

参 考 文 献

- 1) 田原哲士, 西村弘行, 水谷純行; 大腸菌の γ 線照射に対する含硫アミノ酸の効果, 農化, 47(3), 193-200, 1973.
- 2) H. Nishimura, S. Kawakishi and M. Namiki; Studies on gamma-radiolysis of sulfur containing amino acids : I. Gamma-radiolysis of s-n-Propyl-L-cysteine sulfoxide and S-Allyl-L-cysteine sulfoxide in aqueous solution, Agr. Biol. Chem., 34(4), 609-616, 1970.
- 3) A. Nishimura, H. Hashimoto, K. Konno and Y. Ohta; Radioprotective and Radiosensitizing Effects of Sulfur Containing Amino Acids Derivatives on Mice; Z. Nuturforish, 35(C), 726-728, 1980.
- 4) H. D. Dakin; Catalytic lacemization of optical active Hydantoin derivatives and of substantive as the result of tautomeric change, 44, 48-60, 1910.
- 5) J. Mizutani, Y. Miura and S. Tahara; Synthesis of Antimicrobial L-5-Alkylthiomethylhydantoins S-Oxides and Related Compounds, J. Pesticide. Sci., 4, 17-23, 1979.
- 6) S. Tahara and Y. Obata; Studies on α -Alkyl-L-amino Acids. Part I Synthesis of S-Alkyl-2-methyl-L-cysteines, Agr. Biol. Chem., 35 (1), 53-57, 1971.