

Title	発白血病性化合物N-ニトロソ-N-ブチル尿素誘導体の研究：第1報N-ニトロソ-N,N'-ジブチル尿素およびN-ニトロソ-N-ブチル-N', N'-ジメチル尿素の合成
Sub Title	Studies on the derivatives of a leukemogenic N-nitroso-N-butylurea : (I) the synthesis of N-nitroso-N, N'-dibutylurea and N-nitroso-N-butyl-N', N'-dimethylurea
Author	多田, 敬三(Tada, Keizo) 野村, 明子(Nomura, Akiko) 橋本, 嘉幸(Hashimoto, Yoshiyuki) 小田島, 成和(Odashima, Shigeyoshi)
Publisher	共立薬科大学
Publication year	1974
Jtitle	共立薬科大学研究年報 (The annual report of the Kyoritsu College of Pharmacy). No.19 (1974. ) ,p.35- 40
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	原報
Genre	Technical Report
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000019-0035">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000019-0035</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

〔共立薬科大学研究年報〕  
〔No. 19, 35~40 (1974)〕

発白血病性化合物 N-ニトロソ-N-ブチル尿素誘導体の研究  
第1報 N-ニトロソ-N,N'-ジブチル尿素および N-ニトロソ-N-  
ブチル-N',N'-ジメチル尿素\*の合成

多田敬三, 野村明子, 橋本嘉幸\*\*, 小田島成和\*\*\*

Studies on the Derivatives of a Leukemogenic N-Nitroso-N-butylurea  
(I) The Synthesis of N-Nitroso-N,N'-dibutylurea and  
N-Nitroso-N-butyl-N',N'-dimethylurea

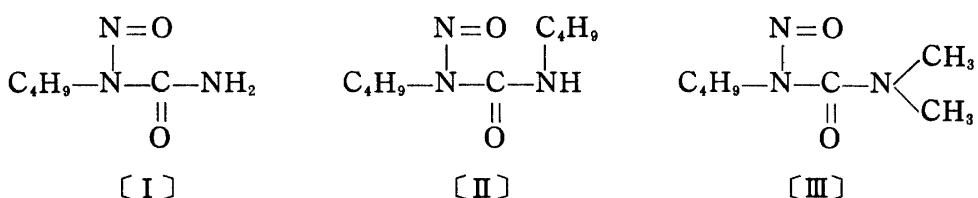
KEIZO TADA, AKIKO NOMURA, YOSHIYUKI HASHIMOTO and  
NARIKAZU ODASHIMA

(Received September 30, 1974)

In relation to our studies<sup>1)</sup> on N-nitroso-N-butylurea (NBU), noted for its high leukemogenic potency, the synthesis of its derivatives has been made in order to investigate their carcinogenic activities.

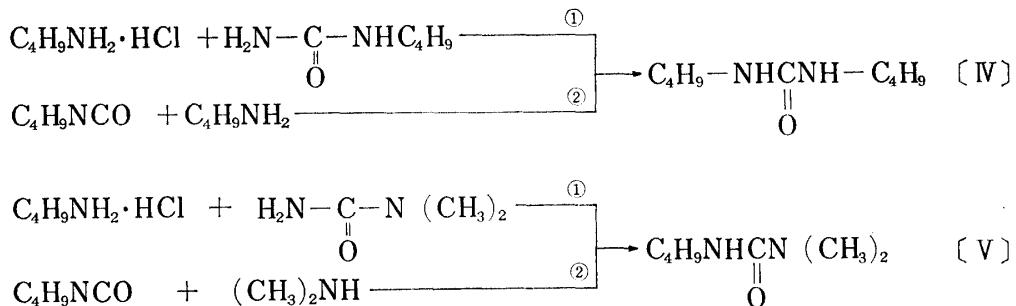
In this report, the two head-titled compounds, N'-butyl-NBU (B-NBU) and N',N'-dimethyl-NBU (DM-NBU) were synthesized by the reaction of butyl-isocyanate with butylamine or dimethylamine respectively, followed by nitrosation by an usual method. For the both substances, detection was made by thin-layer-chromatography, purification by column-chromatography and also identification by UV, IR and NMR spectra and elemental analysis. IR and NMR spectra of B-NBU and nitrosation of N,N'-dibutylurea were discussed a little.

N-ニトロソ尿素類の発癌活性は H. Druckrey 等によって研究され<sup>2)</sup>, さらに N-ニトロソ-N-ブチル尿素 (NBU) [I] の発白血病性が, 小田島, 横路等によって報告され<sup>3)</sup>, N-ニトロソ尿素類への関心は一段と高まっている。われわれは, NBU および類縁化合物の一連の研究<sup>1)</sup>の中で, N-ブチルを変えず他の部分を変えた誘導体の組織学的ならびに生化学的研究に着手し, 先ず本報では, 標題の 2 化合物, 即ち N-ニトロソ-N',N'-ジブチル尿素 (B-NBU) [II] と N-ニトロソ-N-ブチル-N',N'-ジメチル尿素 (DM-NBU) [III] の合成について報告する。



ニトロソアルキル尿素類の合成は, 先ずアルキル尿素を合成し次に亜硝酸によってニトロ化を行う。[II]と[III]の原料である N,N'-ジブチル尿素[IV]および N-ブチル-N',N'-ジメチル尿

Chart 1



素[V]の合成法としては次の①②のルートが考えられる (Chart 1)。①のルートは、[V]の合成において、長時間加熱の結果脱メチル化が起り、[V]が得られず、N-ニトロソ-N-ブチル尿素が得られることがわかったので、われわれは②のルートを行うことにしたところ、[IV]および[V]を高収量で得ることが出来た。

ニトロソ化は当量の亜硝酸ナトリウムと希硫酸により冷時行う常法により粗製の[II]、[III]をかなり好収量で得ることができた。しかし[II]および[III]は、結晶である[I]と異なって何れも粘製のある液体であり、ニトロソ尿素類の通性として蒸留により精製を行うことが出来ないのでカラムクロマトグラフィーにより精製を行ったところ、一回の精製で純品を得ることが出来た。なお途中の検出、純度検討には、TLC、UV ならびに NMR スペクトルを用い、IR、NMR スペクトルおよび元素分析によって同定した。なお[IV]のニトロソ化においては、ニトロソ化される N-H は 2 ケありしかも全く同格であるが、われわれの反応条件では先ず 1 ケが先にニトロソ化されることがわかった。これについては討論の部で少し論ずる。

### 実験の部

#### N, N'-dibutylurea [IV] の合成

n-butylamine (東京化成、特級, bp 78°C) 36.6 g (1/2 モル) をトルエン 75g 中に30分攪拌溶解したものと n-butylylisocyanate (東京化成、特級, bp 115°C) 50 g (1/2 モル) をトルエン 175 g 中に30分攪拌溶解したものとを合せ、30分間加熱還流後バス温約 45°C にてトルエンおよび未反応物質を完全に溜去すると、白色固体（一部針状結晶を含む）の[IV]を得る。mp 70°C (文献値 71°C)。収量 94%。IR  $\text{cm}^{-1}$ : 3360, ( $\nu_{\text{s}}\text{NH}$ ) ; 2940, 2870, ( $\nu\text{CH}_3, \text{CH}_2$ ) ; 1625 ( $\nu\text{C}=\text{O}$ ) ; 1580 ( $\delta\text{-NH}$ )。UV  $\lambda_{\text{max}}^{96\%\text{EtOH}}$  ; 284nm ( $\epsilon$  64)。

#### N-nitroso-N, N'-dibutylurea (D-NBU) [II] の合成

[VI] 86 g (1/2 モル) に、亜硝酸ナトリウム 34.5 g (1/2 モル) を水 69 ml に溶解した液を

\* 組織学的研究結果は第33回日本癌学会総会 (1974年10月) に発表、近刊予定

\*\* 東京生化学研究所

\*\*\* 国立衛生試験所

- 1) 多田、橋本等、本誌、15, 48 (1970)；第29回日本癌学会総会 (1970年10月)，日本薬学会関東支部第15回大会シンポジウム (1971年11月)，日本薬学会第91年会、および第94年会にそれぞれ発表；小田島、杉村、高山編 “Topics in Chemical Carcinogenesis” p. 501～510, (東大出版会) (1972)
- 2) H. Druckrey, et al., Z. Kriebsforsch, 69 (2), 103 (1967)
- 3) 小田島、横路等, GANN, 61, 245, 287, (1970)

徐々に加え、寒剤で冷却しながら、攪拌しつつ 25% 硫酸 120ml を少量宛滴下、この間温度を 0° に保つ。ニトロソ化終了後生ずる白色沈澱物質（未反応の[IV]）を沪別、沪液の油層を分取、水洗後、洗液と水層をエーテル抽出し、油層とエーテル液を合わせ、エーテルを充分加えた後芒硝で一昼夜乾燥後エーテルを留去、橙色粘性の液体を得る。沪過した未反応の[IV]は石油エーテルに不溶であるので、共存する[II]を除去し、ニトロソ化原料にそのまま使用出来る。石油エーテル抽出液は溜去して[II]を回収する。粗製の[II]の収量 73%。

## 粗 D-NBU の TLC およびカラムクロマトグラフィー

Fig. 1 に示す如く粗製の D-NBU にはシリカゲル G-TLC (展開溶媒  $\text{CHCl}_3 : \text{Me}_2\text{CO} = 7 : 1$  v/v 発色 Ehrlich 試薬および螢光にて検出) により微量の [IV] が混在することが確認された。

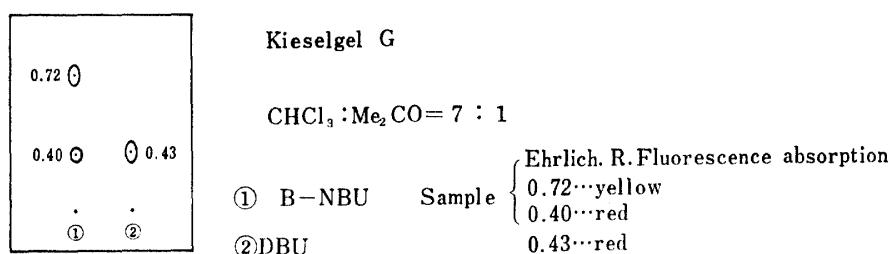


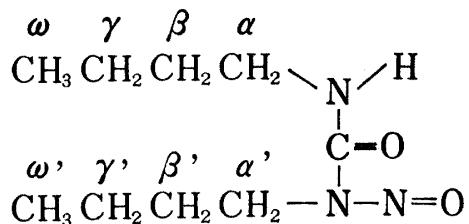
Fig. 1 TLC of crude-B-NBU

次にカラムクロマトグラフィーにより精製する。固定相—kieselgel 0.08 mm 150g；カラム内径 35mm×39cm に湿式充填；展開・溶出溶媒  $\text{CHCl}_3 : (\text{CH}_3)_2\text{CO}$  (7:1 v/v) 試料 4 g を展開溶媒 2 ml に溶かして展開後、同溶媒で溶出、各フラクション (5 g) 毎に TLC で展開、D-NBU の单一スポットの出たフラクションを集め溶媒を減圧留去する。収量 2.5 g.

D-NBU [II] の同定

精製した D-NBU を IR, NMR, UV の各スペクトルおよび元素分析により同定した。

- 1) IR  $\text{cm}^{-1}$  :  $\nu_{\text{max}}$  3350 肩 ( $\nu\text{NH}$ ) ; 2950, 2920, 2860 ( $\nu\text{CH}_3$ ,  $\nu\text{CH}_2$ ) ; 1710 ( $\nu\text{C=O}$ ), 1520, 1475, ( $\delta\text{NH}$ ,  $\nu\text{N-N=O}$ )  
 2) NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  : 0.95 (6H, t,  $\text{CH}_3$ ), 1.35~1.50 (8H, m,  $\beta\text{CH}_2$ ,  $\gamma\text{CH}_2$ ), 3.50 (2H, q,  $\alpha\text{CH}_2$ ), 3.82 (2H, t,  $\alpha'\text{CH}_2$ ), 7.16 (H, N-H) なお考察で  $\alpha$ ,  $\alpha'\text{CH}_2$  のシグナルについては論ずる。



- 4) 元素分析 C<sub>9</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>

	C	H	N
Calc.:	53.70	9.52	20.88
Found.:	53.81	9.44	20.95

**N-butyl-N', N'-dimethyl urea (DMBU) [V] の合成**

[IV]の合成に用いた n-butylisocyanate (20 g) (1/5 モル) をトルエン 70g に加えたものに、良く冷却して液状とした無水ジメチルアミン (東京化成特級ポンベ bp 7°C) 9.3g (1/5モル) を、トルエン 30g に加えて溶かした溶液を攪拌しながら加え室温で30分間攪拌後 30 分間加熱還流する。トルエンを水流ポンプで減圧留去した後、残留物を真空蒸留し bp 138~143°C (主として 143°C) (14.5mmHg) の無色透明な液体として得られる。(文献値<sup>4)</sup> 106~8/0.7mmHg) TLC (シリカゲル G), 融光および Ehrlich 試薬で検出, AcOEt, Me<sub>2</sub>CO の 2 種の溶媒で展開、2回とも原料と異なる位置に単一スポットとして検出したので再蒸留を行わなかった。収量 76.6%。

**N-nitroso-N-butyl-N', N'-dimethylurea (DM-MBU) [III] の合成**

上で得た [V] 19.92g (1/7 モル) に、亜硝酸ナトリウム 9.53g (1/7 モル) を水 9g に溶かしたもの徐々に加え、冷却しながら[IV]のニトロソ化と全く同様に行い悪臭を有する黄色の液体を得た。液中に淡黄色沈殿がありこれを沪過したものにつき TLC を行った。粗製品の収量 88.4%。

**DM-NBU [III] の TLC およびカラムクロマトグラフィー**

上で得た粗製の[III]につきシリカゲル G によって TLC クロマトグラフィーを行った。ベンゼン、酢酸エチル-石油エーテル (1:1 v/v), 無水 EtOH の 3 種の展開溶媒を用い、原料の [V] と異なる点に単一スポット (Fig. 2) を検出した。検出は Ehrlich 試薬による呈色および融光による吸収である。次に念の為[II]と同様カラムクロマトグラフィーによる精製を行った。即ち 0.1ml の試料を、石油ベンジン:酢酸エチル (3:2 v/v) 4 ml に溶解して展開、同溶媒で溶出を行い、全量 80ml の溶出分に対して各クラクション毎に 389nm における吸光度を調べ主要部を集めて溶媒を減圧留去して精製品とし次の同定を行った。

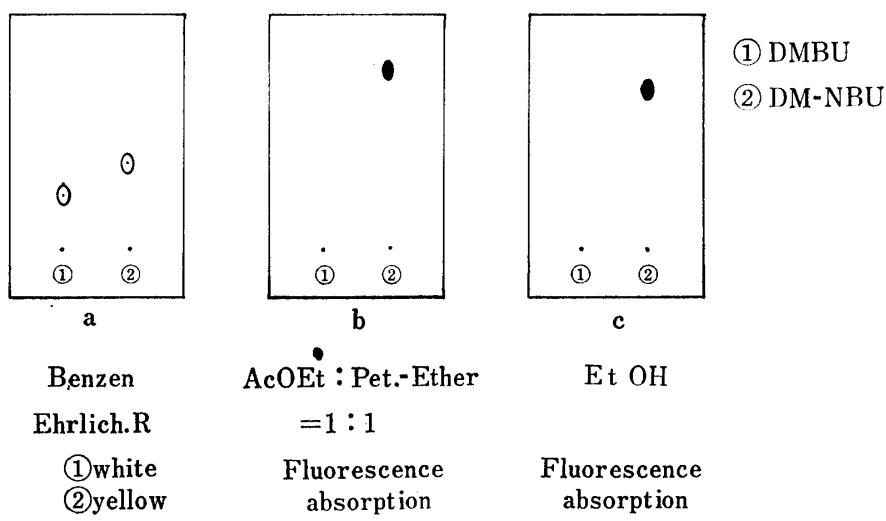
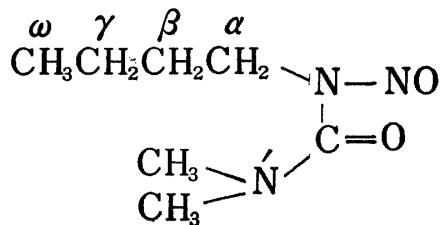


Fig. 2 TLC of crude DM-NBU

4) U. S. Patent, 2,733,988 Feb. 17 (1956)

## DM-NBU [III] の同定

- 1) IR <sub>液体</sub>  $\text{cm}^{-1}$  : 2960, 2930 ( $\nu\text{CH}_3$ ,  $\nu\text{CH}_2$ ), 2874 ( $\nu\text{N-CH}_3$ ), 1700 ( $\nu>\text{C=O}$ ), 1480 ( $\nu\text{N-N=O}$ )
- 2) NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  : 0.9~1.0 (3H, t,  $\omega\text{CH}_3$ ), 1.3~1.5 (4H, m,  $\beta\text{CH}_2$ ,  $\gamma\text{CH}_2$ ), 3.15 (6H, s,  $\text{N}'\text{-CH}_3$ ), 3.75 (2H, t,  $\alpha\text{CH}_2$ )



- 3) UV  $\lambda_{\text{max}}^{96\% \text{ EtOH}}$  : 242nm ( $\epsilon$  6282), 389nm ( $\epsilon$  100)

- 4) 元素分析  $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$

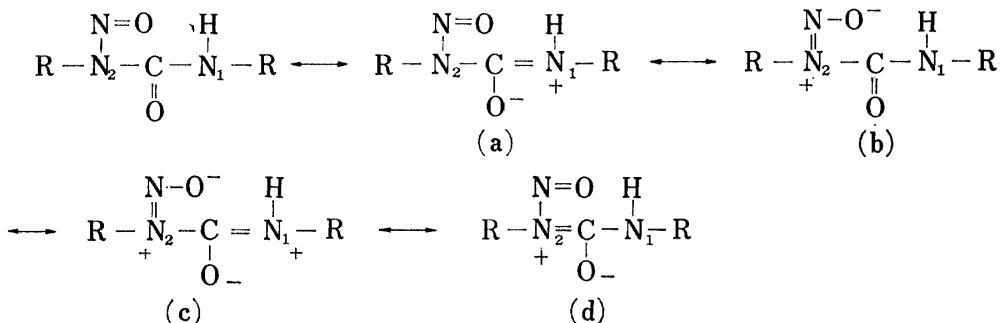
C	H	N
Calc :	48.57	8.73
Found :	49.64	8.77

## 討 論

[IV]と[II]のIRスペクトルのアミドIおよびIIの吸収を比較すると,  $\nu\text{C=O}$ では前者が  $1620\text{ cm}^{-1}$  で、後者は  $1710\text{ cm}^{-1}$  の高波数にずれ、 $\delta\text{N-H}$  ( $\nu\text{C-N}$ ,  $\nu\text{C=N}$  を含む) は、前者が  $1580\text{ cm}^{-1}$  で後者が  $1520\text{ cm}^{-1}$  の低波数にずれている。いま[II]の予想される共鳴構造をChart 2に示すと、(b)において  $-\text{N}=\text{N-C-}$  の共役効果 ( $-\text{N}=\text{N-}$  の Cへの+M効果) は殆どなく、(a)

または(c)の共鳴の寄与が支配的であることを示す。何故なら(b)の寄与が大ならば、 $\nu\text{C=O}$ は低波数にずれる筈であるが事実は逆である。

Chart 2



むしろ(c)の  $\text{N}_2^+$  の-I効果が強く働いて居る為に  $\nu\text{C=O}$  が高波数にずれるものと思われる。このことは、 $\text{N}_1$ の電子欠乏となってあらわれる。 $\text{HNO}_2$ によるニトロソ化は、親電子置換反応であるから、[IV]の  $\text{N}_2$  がニトロソ化され[II]になると、 $\text{N}_1$ の残っている H はニトロソ置換を受けにくくなるものと思われ従って、当量の  $\text{HNO}_2$ によって2ヶの  $\text{N-H}$  のうち一方の H だけが全部ニトロソ化されるまで次のニトロソ化の反応が起こらないものと思われる。

[II]を放置すると、微細結晶が析出して來た。これは前述の如く原料の[IV]であることが、TLC, IR スペクトル、混融によって確認されたが、これを微量含む粗製の[IV]の NMR スペクトルでは、[II]の  $\alpha$ C-H<sub>2</sub> の 3.50 よりやや高磁場の 3.18 ppm に 1/3 H 分の恐らく[IV]の  $\alpha$ CH<sub>2</sub> に基くものと思われるシグナルが出た。また実験の部で前述の如く[II]に関しても、 $\alpha$ CH<sub>2</sub> の方が  $\alpha'$ CH<sub>2</sub> より約 0.39 ppm 高磁場にあった。その原因は両者の場合とも Chart 2 に示す N<sub>2</sub><sup>+</sup>による強力な -I 効果により前者では、[II]の-N<sub>1</sub>-CH<sub>2</sub>-の H の電子密度が[IV]の  $\alpha$ CH<sub>2</sub> の H の電子密度より減少した為であり同様に後者では、N<sub>2</sub><sup>+</sup>に近い位置にある  $\alpha'$ CH<sub>2</sub> の H の電子密度が遠い  $\alpha$ CH<sub>2</sub> の H のそれより低い為に、それぞれ低磁場に移ったものと思われる。

[III]も長時間放置すると（冷暗所においても）濁りを生じ、微細固体が析出したが、このものは TLC のスポットが單一であった事や合成直後の NMR より[II]の場合のように原料の混入ではなく分解したものと思われるが、その分解物の構造は非常に微量の為未だ不明である。

終りに本研究に協力を得た本学卒業生、山中一美、山本規差子、二宮典子、野沢真弓、上野悦子、菊地映子、山田美智子の諸氏、並びに NMR について貴重な助言をいただいた本学教授佐藤良博博士に深く感謝します。