

[薬学雑誌]  
YAKUGAKU ZASSHI  
98 (5) 668-672 (1978)

UDC 547.854.83.03.04 : 546.215.04

## チオウラシル類の分析化学的研究（第2報）チオウラシル類の解離定数 およびそれらと過酸化水素の反応について

畠田孝幸, 守みどり, 中島憲一郎, 吉村 実  
長崎大学薬学部<sup>1)</sup>

### Analytical Studies on Thiouracils. II. Dissociation Constants of Thiouracils and Their Reactions with Hydrogen Peroxide

TAKAYUKI HATADA, MIDORI MAMORI, KENICHIRO NAKASHIMA  
and MINORU YOSHIMURA

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Nagasaki University<sup>1)</sup>

(Received September 22, 1977)

The dissociation constants ( $pK_1$ ,  $pK_2$ ) of 6-substituted thiouracils and uracils were determined by the spectrophotometric method. It was found that  $pK_1$  values of thiouracils were lower than those of the corresponding uracils. The effect of substituents in 6-position of these compounds was examined. Amino and phenyl groups, compared with alkyl group, decreases  $pK_1$  values. Further, the reaction of thiouracils with hydrogen peroxide was studied by the reaction kinetics. Thiouracils were finally converted to the corresponding uracils by hydrogen peroxide. Therefore, the first-order reaction constants were determined and the effect of substituents in 6-position of thiouracils was examined. The optimal experimental conditions were established for utilizing the above reaction to the quantitative determination of thiouracils.

**Keywords**—dissociation constant; 6-substituted thiouracils; 6-substituted uracils; hydrogen peroxide; first-order reaction constant

著者等は前報<sup>2)</sup>において、チオウラシル類の誘導体を多数合成し、それらの薄層クロマトグラフィーにおける諸性質の検討を行なった。今回はチオウラシル類およびウラシル類の解離定数（以下  $pK$  とする）を吸光光度法を用いて求め、更に過酸化水素（以下  $H_2O_2$  とする）によりチオウラシル類がウラシル類に変化する反応に着目して、これらの反応速度を測定しチオウラシル類の定量への応用について検討を行なった。また合わせて  $pK$  および反応速度に対する置換基の影響についても検討を加えた。その結果、若干の知見を得たので報告する。

### 実験の部<sup>3)</sup>

1. 試料 実験試料としては Chart 1 に示す 6-置換チオウラシル類 (Ia—Va) およびウラシル類 (Ib—Vb) を使用した。ウラシル類は uracil (Ib) の市販品を除いて、前報<sup>2)</sup>の 6-methyluracil (IIb) の合成法で合成した。5-ブロモ体 (VI) も前報<sup>2)</sup>の方法で合成し、5-ヨード体 (VII) は市販品を使用した。

6-Propyluracil (IIIb)—*Anal.* Calcd. C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: C, 54.53; H, 6.54; N, 18.17. Found: C, 54.29; H, 6.49; N, 18.16. mp 215°, yield 90%.

6-Phenyluracil (IVb)—*Anal.* Calcd. C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: C, 63.82; H, 4.29; N, 14.89. Found: C, 63.82; H, 4.27; N, 14.78. mp 275—277°, yield 80%.

6-Aminouracil (Vb)<sup>4)</sup>—*Anal.* Calcd. C<sub>4</sub>H<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>: C, 37.80; H, 3.97; N, 33.06. Found: C, 37.89; H, 4.06; N, 33.24. mp >300°, yield 95%.

2. 試葉 試葉はすべて市販特級品を使用した。緩衝液<sup>5)</sup>の調製は、pH メーターによって検定補正を行なった。

1) Location: Bunkyo-machi 1-14, Nagasaki.

2) 吉村 実, 畠田孝幸, 出来三男, 杉井通泰, 薬誌, 96, 1094 (1976).

3) 化合物の融点はすべて未補正。

4) 中島憲一郎, 薬誌, 97, 202 (1977).

5) 化学定数表編集委員会編, “常用化学定数表,” 第2改稿6版, 廣川, 東京, 1971, p. 392—404.

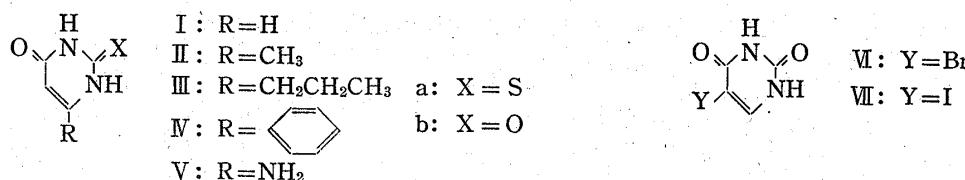


Chart 1

3. 使用機器 分光光度計：島津自記分光光度計 MP-50 型，島津デジタルダブルビーム分光光度計 UV-150 型。pH メーター：東亜電波 HM-5A 型。

4. pK の測定<sup>6,7)</sup> 紫外吸収スペクトルの測定はチオウラシル類の場合約 10 mg を、ウラシル類の場合約 20 mg を精秤し、水に加温して溶かし、放冷後正確に 250 ml とする。その 4 ml を正確にとり、各 pH の緩衝液で全量を 25 ml とする。6-Methyl-2-thiouracil (IIa) の第一解離は pH 6—11 の間で吸収曲線の変化を示し、Fig. 1 のような結果となる。260 nm と 300 nm に等吸収度点が認められ分子型とイオン型の存在が確認される。そこで 275 nm における吸光度の変化を測定し、次式より第一解離定数 (pK<sub>1</sub>) を求めた。IIa の第二解離は pH 11 以上での吸収曲線の変化をもとにして、305 nm における吸光度を測定し、同様に計算して第二解離定数 (pK<sub>2</sub>) を求めた。以上の測定温度は 20±1° で行なった。

$$pK = \text{pH} + \log E - a/b - E$$

E: 解離した分子と解離しない分子の混合物の吸光度

a: 解離しない分子の吸光度（分子型）

b: 解離した分子の吸光度（イオン型）

#### 5. 反応速度の測定<sup>8,9)</sup>

チオウラシル類 (Ia—Va) の約 20—30 mg を精秤し、水又は緩衝液に加温して溶かし、放冷後正確に 100 ml とする。この試料溶液の 2.5 ml をとり pH 11 の緩衝液で全量を正確に 25 ml とし、これに 1.2% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液 0.5 ml を添加して吸光度の変化を測定し、反応速度を求めた。測定波長はチオウラシル類のうち Ia, IIa および IIIa は 310 nm で、IVa は 328 nm で、Va は 290 nm で行ない、測定時間は Ia, IIa および IIIa は 1.2% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液添加後、1 分から 10 分までを、IVa は 1 分から 5 分までを、Va は 3 分から 10 分までを用いた。なお対照液は緩衝液 25 ml に H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液 0.5 ml を添加したものを使用した。測定温度は 20±1° で行ない、反応速度定数 (K) を次式によって求めた。

$$K = 2.303/t \cdot \log C_0/C$$

C<sub>0</sub>: 初濃度、C: 未反応で残った濃度、t: C<sub>0</sub> から C になるまでの時間

6. 定量操作 チオウラシル類 (Ia—Va) の試料溶液は反応速度の測定の場合と同様の方法で調製し、その 0.5 ml, 1.0 ml, 1.5 ml, 2.0 ml および 2.5 ml をとり、pH 11 の緩衝液で全量を正確に 25 ml とする。これに 1.2% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液 0.5 ml を添加して、各々について反応速度を測定し、検量線を作製した。測定波長および測定時間は反応速度定数 (K) を求めた時と同様にして行なった。測定温度も 20±1° で行なった。

### 結果と考察

#### 1. チオウラシル類の pK について

6-置換チオウラシル類およびウラシル類は構造から第一解離と第二解離が存在することが考えられるので、各 pH の緩衝液における吸光度を測定し、pK<sub>1</sub> と pK<sub>2</sub> を計算式により求めた。チオウラシル類はウラシル類より

6) L.A. Flexser, L.P. Hammett, A. Dingwall, *J. Am. Chem. Soc.*, 57, 2103 (1935).

7) H.C. Brown, D.H. McDaniel, *J. Am. Chem. Soc.*, 77, 3752 (1955).

8) 田中元治, 舟橋重信, 分析化学, 18, 1149 (1969).

9) 内海 喻, 分析化学, 16, 644 (1967).

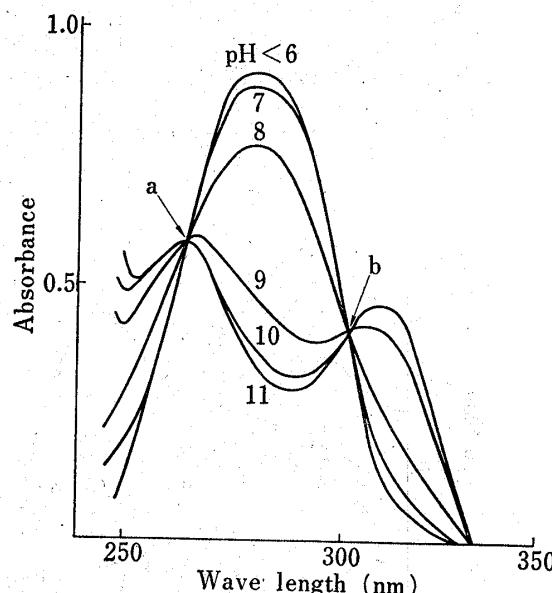


Fig. 1. Absorption Curves of 6-Methyl-2-thiouracil at Various pH Values

a, b: isosbestic point.

TABLE I. pK Values of Thiouracils and Uracils

	pK ( $\lambda^a$ )		pK ( $\lambda^a$ )		
	pK <sub>1</sub>	pK <sub>2</sub>	pK <sub>1</sub>	pK <sub>2</sub>	
Ia	8.10(285)	13.00(310)	IIb	9.76(260)	14 (280)
IIa	8.33(280)	13.37(305)	IIIb	10.00(262)	14 (285)
IIIa	8.40(275)	13.20(308)	IVb	9.10(285)	13.46(305)
IVa	7.68(275)	13.38(310)	Vb	8.85(263)	14 (280)
Va	7.10(275)	13.90(290)	VI	8.16(275)	13.02(305)
Ib	9.63(285)	13.36(285)	VII	8.50(280)	13.14(305)

a)  $\lambda$ : absorbance measurement at this wave length.

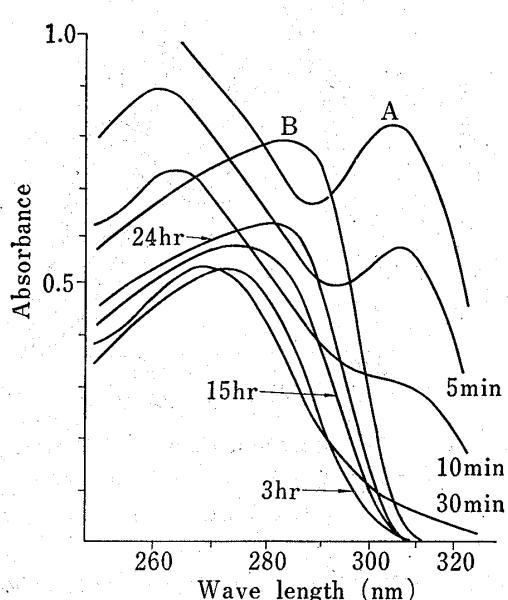


Fig. 2. Typical Spectral Changes for the Reaction of 2-Thiouracil with  $H_2O_2$

A: 2-thiouracil, B: Uracil.  
Numbers on individual curves are standing time.

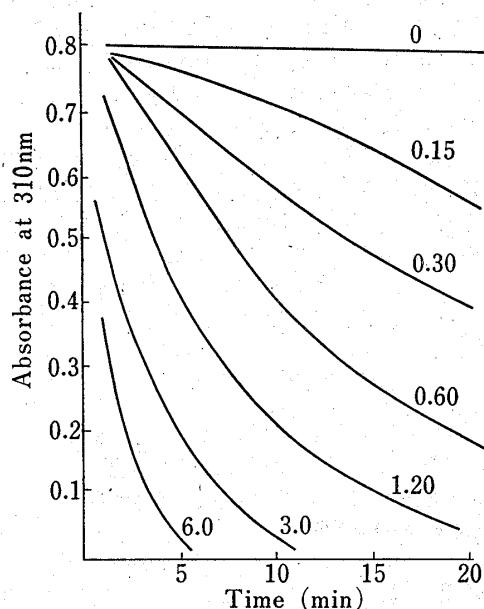


Fig. 3. Effect of Concentration of  $H_2O_2$  on the Degradation of 2-Thiouracil at pH 12

Numbers on individual curves are concentration of  $H_2O_2$  (w/v %).

もチオール基の存在によって酸性度が強いことが知られているが、Table I に示すようにチオウラシル類は相当するウラシル類よりも pK<sub>1</sub> 値が約 1.5 ほど小さい値であった。ただしウラシル類でも 5 位にハロゲン基がある場合は、チオウラシル類とほぼ同等またはそれより大きい酸性度を示すことが pK<sub>1</sub> 値からわかった。pK<sub>2</sub> についてはほとんどの化合物が 13 以上の値であった。次に 6 位の置換基が pK<sub>1</sub> 値におよぼす影響は、チオウラシル類の場合もウラシル類の場合も同様な傾向が認められ、6 位にアミノ基やフェニル基が存在する場合は酸性度が大きく、メチル基やプロピル基のようなアルキル基が存在する場合は酸性度が小さいことがわかった。このことより、酸性度の強弱の要因として共役系を作りやすい置換基の有無が考えられ、6 位の置換基の影響が大きく寄与しているものと思われる。

## 2. チオウラシル類と $H_2O_2$ の反応について

1) 反応性の検討 チオウラシル類は塩基性水溶液中で  $H_2O_2$  を作用させると、相当するウラシル類となることが報告されている。<sup>10)</sup> そこでこの反応に着目し、反応速度を利用して置換基の影響および定量法への応用について検討を加えた。まずチオウラシル類の塩基性における吸収曲線は酸性または中性で測定した場合と比較して、

10) 北村良一, 薬誌, 57, 233 (1937).

いずれも長波長へシフトする。これはチオール基によるものと考えられる。この吸収は  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液の添加によりたちに消失し、24時間後には相当するウラシル類に一致する吸収曲線となる。そこでこの変化を経時的に測定すると、約15分から20分間で急激な変化がみられ、一定の吸収曲線となる。しかしこの曲線はウラシル類の吸収曲線と一致していない。このことはこの反応が中間体形成までの一次反応であり、それから更にウラシル類へ徐々に変化していくものと推定されたが、中間体については検討を加えていない。<sup>11,12)</sup> そこで今回はこの一次反応について検討を加えることにした。Fig. 2 は 2-thiouracil (Ia) の場合の  $\text{H}_2\text{O}_2$  による吸収曲線の変化であるが、310 nm における吸光度を測定することにより反応速度を求めることにした。他のチオウラシル類の吸光度の測定波長については Table II に示す。

**2. 吸収曲線における  $\text{H}_2\text{O}_2$  の影響**  $\text{H}_2\text{O}_2$  の紫外部における吸収曲線をみるとために、緩衝液 (pH 9—12) 25 ml に各種濃度の  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液 0.5 ml を加えて、水を対照液としてその吸収曲線を測定したところ、高濃度になるほど吸収強度が大きくなり、塩基性が強くなるほど吸収強度が大きくなることがわかった。すなわち反応速度を求める際に、これらの影響を考慮に入れる必要があると考えた。そこで各種濃度の  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液を添加して反応速度を求める時、対照液にも同じ添加量の  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液を加えた。まず各種濃度の  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液における Ia の反応速度を測定した。pH 12 の緩衝液を用いた場合は Fig. 3 のような結果を得た。このことより適当な反応速度を得るために、1.2%  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液が適していると考えられる。

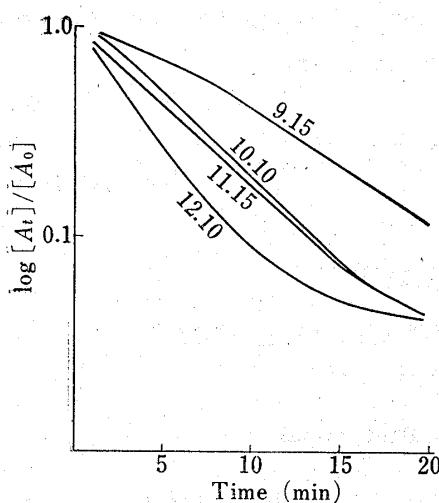


Fig. 4. First-order Disappearance Curves of 2-Thiouracil at Various pH Values

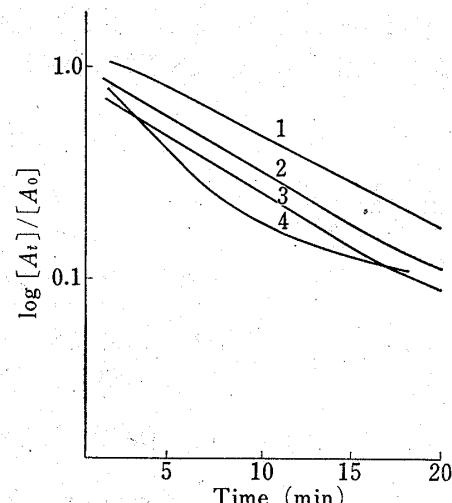


Fig. 5. First-order Disappearance Curves of Thiouracils at pH 11  
1: Va, 2: IIa, 3: IIIa, 4: IVa.

TABLE II.  $K$  Values of Thiouracils

	$\lambda$ (nm)	Time (min)	$K (10^{-1})$
Ia	310	1—10	1.16
IIa	310	1—10	1.10
IIIa	310	1—10	1.20
IVa	328	1—5	1.92
Va	290	3—10	0.95

11) 2-Thiouracil のジスルフィド体が知られているが、このものの pH 11.6 における吸収曲線と、今回の中間体の吸収曲線が非常に良く類似していることから、中間体としてはジスルフィド体であることが考えられる。

12) Wilbur H. Miller, Richard O. Roblin, Jr., E.B. Astwood, *J. Am. Chem. Soc.*, 67, 2201 (1945).

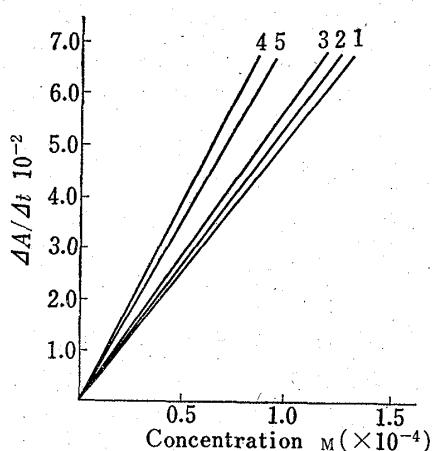


Fig. 6. Calibration Curves of Thioouracils

1: Ia, 2: IIa, 3: IIIa, 4: IVa, 5: Va.

3) pH の検討 至適 pH を検討するため pH 9, 10, 11 および 12 の緩衝液中での 1.2%  $H_2O_2$  による Ia の反応速度をそれぞれ求めた。時間に対する吸光度の減少率を求めるとき、Fig. 4 のような結果が得られた。これから塩基性が大きくなるほど Ia の場合は、反応速度が大きくなることがわかった。またグラフより、測定時の pH の値は 11—12 が適当であった。

4) 反応速度定数の測定および定量 そこで以上の条件すなわち 1.2%  $H_2O_2$  を用いて pH 11 における他のチオウラシル類の反応速度を検討した。その結果を Fig. 5 に示した。このグラフより、反応速度定数 ( $K$ ) を求める際の測定時間を決定した。時間および  $K$  値については Table II に示す結果となった。これから  $K$  値が最も大きいのは IVa で、他のチオウラシル類に比してかなり大きい値を示す。Ia, IIa および IIIa はほぼ同じ値を示し、Va が最も低い値を示した。このことはフェニル基およびアミノ基がアルキル基に比して、反応速度に影響を与えることを示唆していると思われる。

最後にこれら的一次反応を満足する時間内で反応速度を測定し、検量線を求めるとき各々のチオウラシル類については、Fig. 6 のような結果を得た。このことから、十分定量可能であることがわかった。今後この定量法の応用について、更に詳細な検討を加える必要があると考える。

[薬学雑誌]  
98(5) 672-675 (1978)

UDC 547.913.02 : 581.192

### マニラコパールの成分について

沖川正善, 二宮義和, 羽坂則子, 河野信助,<sup>1a)</sup> 上田博之<sup>1b)</sup>  
長崎大学薬学部,<sup>1a)</sup> 昭和薬科大学<sup>1b)</sup>

### On the Ingredients of Manila Copal

MASAYOSHI OKIGAWA, YOSHIKAZU NINOMIYA, NORIKO HASAKA,  
NOBUKAZU KAWANO<sup>1a)</sup> and HIROYUKI AGETA<sup>1b)</sup>

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Nagasaki University<sup>1a)</sup> and  
Showa College of Pharmaceutical Sciences<sup>1b)</sup>

(Received November 1, 1977)

Isolation of sandaracopimamic acid (III), 15-methyl agathate (IV), agatholic acid acetate (V), and agathalic acid (VI) from Manila copal is described. This is the first report on the isolation of agatholic acid acetate from a natural source.

**Keywords**—Manila copal; sandaracopimamic acid; 15-methyl agathate; agatholic acid acetate; agatholic acid; agathalic acid

マニラコパールの成分として agathic acid<sup>2a)</sup> (I) および agatholic acid<sup>2b)</sup> (II) が報告されている。オーストラリア産のカウリコパールからは多くの成分が報告されているが、マニラコパールの成分に関する報告は比較的

- 1) Location: a) 1-14 Bunkyo-machi, Nagasaki, 852 Japan; b) 5-1-8 Tsurumaki, Setagaya-ku, Tokyo 154, Japan.
- 2) L. Ruzicka, J.R. Hosking, *Ann. Chem.*, 469, 147 (1929).
- 3) C. Enzell, *Acta Chem. Scand.*, 15, 1303 (1961).