—ノート—

催涙剤成分イソチオシアン酸アリルとアルコールとの反応

金森美江子, 野口絵里子, 金森達之, 大森 毅, 瀬戸康雄

科学警察研究所

〒277-0882 千葉県柏市柏の葉 6 丁目 3 番地 1

Reaction of lachrymator Allyl Isothiocyanate with Alcohol

Mieko Kanamori-Kataoka, Eriko Noguchi, Tatsuyuki Kanamori,
Takeshi Ohmori and Yasuo Seto*National Research Institute of Police Science**6-3-1, Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-0882, Japan**(Received 18 February 2011; accepted 18 April 2011)*

We ascertained that one of the lachrymator, allyl isothiocyanate (AITC), reacted with alkyl alcohol to form *O*-alkyl allylthiocarbamate. AITC was incubated with methanol, ethanol (EtOH) or 2-propanol, respectively, and analyzed by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). On the total ion chromatogram of the reaction mixture, one peak appeared which was different from AITC, and the molecular weight was 131, 145 or 159, respectively. The reaction product of AITC with EtOH was prepared from the mixture. By ^1H nuclear magnetic resonance (NMR) analysis, six pairs of the signals which resembled each other appeared at room temperature and some of the paired signals overlapped by heating. It was suggested that the reaction product of AITC with EtOH was *O*-ethyl allylthiocarbamate, and that it was composed of the mixture of conformational isomers at room temperature.

Key words: Allyl Isothiocyanate, Alcohol, Tear gas spray

1. 緒 言

イソチオシアン酸アリル (AITC, Fig. 1) は, 独特の刺激臭を有する高揮発性の油状化合物で, アブラナ科の植物中に配糖体 (シニグリン) として存在し, シニグリンがミロシナーゼにより分解されることで生成する¹⁾. AITC を含有するセイヨウワサビやカラシ抽出物は抗菌作用を有することから食品添加物として使用されており^{2,3)}, 抗ガン作用につい

ても報告されている⁴⁾. 一方で, 大量摂取によりウシが中毒を起こす事例が発生している⁵⁾.

近年 AITC を成分とした国産の護身用スプレーが流通し, これを悪用した事案が発生している. 我々は法科学的な観点から催涙剤成分の検査法に関して研究を進めているが^{6,7)}, AITC は, 既存の催涙成分である 2-クロロアセトフェノン (CN) やカプサイシノイド含有のトウガラシ抽出物 (OC), *o*-クロロベンジリデンマロノニトリル (CS) などと比

Fig. 1 Chemical structure of allyl isothiocyanate (AITC).

較して揮発性が高く、付着物や拭き取り試料からの AITC の検出は困難を極める。国内で流通する AITC 含有の護身用スプレーにおいては、溶媒としてエタノールやプロピレングリコールなどが用いられているが、スプレー内液から AITC 自身が検出されないことを経験した。AITC はその構造から反応性に富んでおり、スプレー溶媒と反応し別の化合物に変化したことも考えられる。AITC とアルコールとの反応物については、いくつかのガスクロマトグラフィー/質量分析 (GC/MS) 法による測定報告があるが^{8,9)}、その構造の詳細な裏付けは行われていない。

そこで、我々は AITC とアルキルアルコールとの反応物を調製し、その構造同定を行ったので報告する。

2. 材料および方法

2-1 試料

AITC は、(株)東京化成工業 (東京) 製を使用した。重水素化クロロホルム (CDCl_3)、重水素化ジメチルスルホキシド ($\text{DMSO}-d_6$) および重水素化エタノール ($\text{EtOH}-d_6$) は、和光純薬 (東京) 製を使用した。その他の試薬については全て分析用試薬を使用した。市販の護身用防犯スプレーとして、「かけちゃうゾ」(内容量 50 ml, (株)スズカファイン (三重)) を使用した。

2-2 試液の調製および反応物の精製

AITC を、メタノール (MeOH)、エタノール (EtOH)、2-プロパノール ($i\text{-PrOH}$)、または $\text{EtOH}-d_6$ に溶解させ (16.0, 16.8, 18.6, 18.3 mg/ml)、各溶液を室温および 50°C でインキュベートした。これらの一部を n -ヘキサンで希釈後、GC/MS 測定を行った。また、反応溶液の一部を採取して 40

$^\circ\text{C}$ で窒素気流下乾固し、得られた残留物をプロトン核磁気共鳴 (^1H NMR)、フーリエ変換-赤外分光 (FT-IR) 測定へ処した。さらに、氷冷下、市販の護身用スプレーを噴射して内液を回収し、得られた内液を n -ヘキサンで 100 倍希釈後 GC/MS 測定へ処した。

2-3 GC/MS

以下の条件で GC/MS 測定を実施した。

装置：Agilent Technologies (サンタクララ, 米国) 製 6890 シリーズガスクロマトグラフおよび 5975N 質量分析装置、カラム：Agilent Technologies 製 HP-5MS ($30\text{ m} \times 0.25\text{ mm i.d.}$, 膜厚 $0.25\text{ }\mu\text{m}$)、キャリアガス：ヘリウム (1 ml/分)、スプリット比：20、カラム温度： 90°C (1 分) - (20°C/分) - 180°C - (50°C/分) - 290°C (3 分)、注入口温度： 200°C 、トランスファーライン温度： 250°C 、イオン化法：電子イオン化 (EI) 法およびポジティブ化学イオン化 (PCI) 法 (メタン使用)、イオン化電圧： 70 eV ($34.6\text{ }\mu\text{A}$, EI) および 40.2 eV ($202.7\text{ }\mu\text{A}$, PCI)、イオン源温度： 230°C (EI) および 300°C (PCI)、測定質量範囲： m/z 40-400 (EI), 50-400 (PCI)、注入量： $1\text{ }\mu\text{l}$ 。

2-4 FT-IR

以下の条件で FT-IR 測定を実施した。

装置：(株)日本分光 (東京) 製 FT/IR-610、測定法：液膜法、分解能： 4 cm^{-1} 。

2-5 ^1H NMR

以下の条件で ^1H NMR 測定を実施した。

装置：(株)日本電子 (東京) 製 FT-NMR JNM-ECP600 (600 MHz)、測定温度：室温または 100°C 、測定溶媒： CDCl_3 または $\text{DMSO}-d_6$ 。

3. 結果および考察

3-1 GC/MS

標品 AITC ならびに AITC と MeOH , EtOH または $i\text{-PrOH}$ との反応物 (AITC- MeOH , AITC- EtOH , AITC- $(i\text{-PrOH})$) のトータルイオンクロマトグラム (TIC), EI および PCI マススペクトルを Fig. 2 に示す。AITC- MeOH または AITC- $(i\text{-PrOH})$ の EI マススペクトルは、これまでに報告されたマススペクトルと一致した^{8,9)}。直鎖アルカ

Fig. 2 Total ion chromatogram and mass spectra of AITC (A), reaction products of AITC with methanol (B), ethanol (C) and 2-propanol (D). Spectra were measured by EI and PCI modes.

ンの炭素数を指標とした，反応物の保持指標は，各々1142, 1216 および1244であった．化合物のマスペクトルより，反応物の分子量は各々131, 145および159であると考えられた．いずれの反応物も，50℃反応において室温反応よりも反応速度が増大した．反応物の生成量は MeOH, EtOH, i-PrOH の順に少なくなり，アルキル鎖が大きくなるにつれ反応速度が低下した．イソチオシアン酸類 (R-NCS) の類似化合物であるイソシアン酸類 (R-NCO) は一般に反応性に富んでおり，アミン，酸アミド，フェノール，カルボン酸，水などの求核試薬と反応する (Fig. 3 (A))¹⁰⁾．R-NCS についても，R-NCO より反応性は低いものの同じ反応様式を有することが知られており (Fig. 3 (B))¹⁰⁾，イソチオシアネートとアミンとの反応によりジアルキルチオウレアが生成することが報告されている¹¹⁾．したがって，本実験においても AITC とアルコールが反応し，O-アルキルアリルチオカルバメートが生成すると推定された (Fig. 3 (C))．この化合物の分子量はマス

Fig. 3 Reaction schemes of isocyanate with nucleophilic agent (HX) (A), of isothiocyanate with nucleophilic agent (HX) (B), and of AITC with alcohol (R'-OH) (C).

ペクトルより推定される分子量とも一致した．さらに，反応物のマスペクトルの開裂様式を決定するために，AITC と EtOH-d₆ を反応させ同様の分析を行い，EtOH (Fig. 2 (C)) および EtOH-d₆ (Fig. 4) 反応物のマスペクトルを比較した結果，O-エ

Fig. 4 Mass spectra of a reaction product of AITC with deuterated ethanol. Spectra were measured by EI and PCI modes.

Fig. 5 EI mass fragmentation pattern of *O*-ethyl allylthiocarbamate.

チルアリルチオカルバメートと推定される化合物の EI マススペクトルにおける開裂様式は、Fig. 5 に示すように推察された。

3-2 FT-IR

AITC と EtOH の反応物の IR スペクトルを Fig. 6 に示す。3,300 cm^{-1} 付近に N-H 基の伸縮振動に由来する吸収、1,640 cm^{-1} 付近にビニル基の伸縮振動に由来する吸収、1,520 および 1,190 cm^{-1} 付近

Fig. 6 IR spectrum of a reaction product of AITC with ethanol.

に窒素結合 C=S 基の伸縮振動に由来すると推定される吸収が認められ、*O*-エチルアリルチオカルバメートの構造を強く示唆するものであった。

3-3 ^1H NMR

さらに、反応物の構造を同定するために ^1H NMR による測定を実施した。CDCl₃ を測定溶媒とした場合の AITC-EtOH のスペクトルを Fig. 7(A) に示す。ほぼ同じ挙動を示す二組の化合物のシグナル群が観察された (Fig. 7(A), 化合物(a)および(b))。各反応物の NMR スペクトル、化学シフト、分裂様式およびカップリング定数を以下に示す。 ^1H NMR (CDCl₃, δ in ppm), AITC-EtOH: (a) 1.37 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, -CH₃), 3.90 (tt, $J=5.8$ and 1.6 Hz, 2H, -CH₂-NH-), 4.56 (q, $J=7.1$ Hz, 2H, -CH₂-CH₃), 5.18-5.27 (m, 2H, CH₂=CH-), 5.81 (m, 1H, =CH-), 6.67 (broad, 1H, -NH-). (b) 1.33 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, -CH₃), 4.21 (tt, $J=5.5$ and 1.6 Hz, 2H, -CH₂-NH-), 4.50 (q, $J=7.1$ Hz, 2H, -CH₂-CH₃), 5.18-5.27 (m, 2H, CH₂=CH-), 5.90 (m, 1H, =CH-), 6.27 (broad, 1H, -NH-). また、MeOH, *i*-PrOH においても二組のシグナルが認められ (各々化合物(c), (d), および(e), (f)とする), ^1H NMR スペクトルは以下の通りであった。AITC-MeOH: (c) 3.89 (tt, $J=5.8$ and 1.6 Hz, 2H, -CH₂-NH-), 4.07 (s, 3H, -CH₃), 5.18-5.26 (m, 2H, CH₂=CH-), 5.81 (m, 1H, =CH-), 6.66 (broad, 1H, -NH-). (d) 4.00 (s, 3H, -CH₃), 4.21 (tt, $J=5.5$, 1.6 Hz, 2H, -CH₂-NH-), 5.18-5.26 (m, 2H, CH₂=CH-), 5.89 (m, 1H, =CH-), 6.27 (broad, 1H, -NH-).

Fig. 7 ^1H NMR spectra of a reaction product of AITC with ethanol measured in deuterated chloroform at room temperature (A), in deuterated dimethylsulfoxide (DMSO-d_6) at room temperature (B), and in DMSO-d_6 at 100°C (C). Signals of conformational isomers were shown as (a) and (b).

$-\text{NH}-$). AITC-(*i*-PrOH): (e) 1.36 (d, $J=6.2$ Hz, 3H, $-\text{CH}_3$), 3.86–3.89 (m, 2H, $-\text{CH}_2-\text{NH}-$), 5.17–5.27 (m, 2H, $\text{CH}_2=\text{CH}-$), 5.54–5.60 (m, 1H, $-\text{O}-\text{CH}-(\text{CH}_3)_2$), 5.80 (m, 1H, $=\text{CH}-$), 6.63 (broad, H, $-\text{NH}-$). (f) 1.32 (d, $J=6.2$ Hz, 3H, $-\text{CH}_3$), 4.20–4.22 (m, 2H, $-\text{CH}_2-\text{NH}-$), 5.17–5.27 (m, 2H, $\text{CH}_2=\text{CH}-$), 5.54–5.60 (m, 1H, $-\text{O}-\text{CH}-(\text{CH}_3)_2$), 5.90 (m, 1H, $=\text{CH}-$), 6.20 (broad, H, $-\text{NH}-$).

AITC-EtOH において、化合物(a), (b)間で対応するシグナルの化学シフトは 0–0.4 ppm の範囲で分離しており、それらのシグナルの面積比は(a) : (b) = 1 : 1.6であった (Fig. 7 (A)). AITC と MeOH および *i*-PrOH の反応物(c), (d)および(e), (f)についても、対応するシグナルの化学シフトが

0–0.39 ppm, 0–0.43 ppm の範囲で分離しており、その面積比は 1 : 1.8 および 1 : 1.5 であった. *O*-アルキルアリルチオカルバメートの C(S)-N と構造の類似したアミド C(O)-N において、C-N 結合は二重結合性を有していることが知られており、NMR などでアミドの配座異性体がしばしば観察されることが報告されている¹²⁾. 化合物(a)と(b)において、シグナルの化学シフトの分離度合いが $-\text{NH}-$ と $-\text{CH}_2-\text{NH}-$ において特に大きく、回転障壁が高いと考えられることから、*O*-エチルアリルチオカルバメートにおいても、チオアミド C(S)-N の C-N 結合における配座異性体の存在の可能性が示唆された (Fig. 8). そこで、AITC-EtOH 反応物について測定溶媒を DMSO-d_6 に変更し、加熱によりシ

Fig. 8 Conformational isomers of *O*-ethyl allylthiocarbamate.

Fig. 9 Total ion chromatogram and mass spectra of diluted ($\times 100$) solution of commercial defense spray; (A): AITC, (B): *O*-ethyl allylthiocarbamate.

グナルにどのような変化が認められるか調べた。Fig. 7(B)および Fig. 7(C)に室温および100°Cで測定した場合の ^1H NMR スペクトルを示す。CDCl₃ を測定溶媒とした場合よりもシグナルが高磁場側にシフトする傾向が認められた (Fig. 7(B))。また、100°Cで測定した場合、1.2, 5.1, 5.8 ppm 付近の化合物(a)と(b)のシグナルは一つに重なったことが

ら (Fig. 7(C))、化合物(a)と(b)は配座異性体であることが示唆された。一方、3.8および4.0 ppm 付近のシグナルは100°Cで測定した場合においても分離したままであった。この化学シフトは、二重結合性を有する C-N に隣接するメチレン基の水素に帰属しており、回転障壁が高いためと推測された。

3-4 護身用スプレースの分析

市販の護身用スプレースの希釈液の GC/MS 測定結果を Fig. 9 に示す。TIC 上において保持時間6.9分にピークが認められ、AITC と EtOH との反応物の保持時間およびマススペクトル (Fig. 2(C)) と一致した。また、TIC における保持時間4.2分のピークは AITC の保持時間およびマススペクトルと一致した。なお、このスプレースの構成成分は、エチルアルコールと辛子オイルと記載されていた。

4. 結 語

イソチオシアン酸アリルとアルキルアルコールとの反応生成物は、*O*-アルキルアリルチオカルバメートであった。この化合物は C-N 結合において二重結合性を有しており、室温において配座異性体の混合物として存在することが示唆された。

文 献

- 1) McGregor, D. J., Mullin, W. J. and Fenwick, G. R.: Analytical methodology for determining glucosinolate composition and content. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **66**, 826-849 (1983).
- 2) Sekiyama, Y., Mizukami, Y., Takada, A., Oosono M. and Nishimura, T.: Effect of mustard extract vapor on fungi and spore-forming bacteria. *J. Antibact. Antifung. Agents*, **24**, 171-178 (1996).
- 3) Masuda, H., Harada, Y., Kishimoto, N. and Tano, T.: Antimicrobial activities of isothiocyanates. In *Aroma Active Compounds in Foods* (Eds. Takeoka, G. R., Güntert, M. and Engel, K.-H.), pp. 229-250, American Chemical Society, Washington (2001).
- 4) Conaway, C. C., Yang, Y.-M. and Chung, F.-L.: Isothiocyanates as cancer chemopreventive

- agents: Their biological activities and metabolism in rodents and humans. *Curr. Drug Metab.*, **3**, 233–255 (2002).
- 5) 西口 示, 上山 功, 森本啓介, 大谷仁汰, 彦坂幸夫, 松原 亘, 三浦豪夫, 原田勝由: アブラナ属雑草カラシナ類による中毒例. 家畜診療, **406**, 25–30 (1997).
- 6) Kataoka, M., Seto, Y., Tsuge, K. and Noami, M.: Stability and detectability of lachrymators and their degradation products in evidence samples. *J. Forensic Sci.*, **47**, 44–51 (2002).
- 7) Noami, M., Igarashi, K., Ueda, K., Yamamoto, S., Nogami, Y., Seto, Y. and Kataoka, M.: Determination of capsaicin and its hydrolyzed metabolite vanillylamine in body fluids by liquid chromatography combined with solid-phase extraction. *Jpn. J. Forensic Toxicol.*, **22**, 33–37 (2004).
- 8) Mullin, W. J.: High-performance liquid chromatography and gas chromatography of organic isothiocyanates and their methanol-isothiocyanate addition compounds. *J. Chromatogr.*, **155**, 198–202 (1978).
- 9) Theeuwes, A. B. E., Verburgt, J. W. and Verweij, A. M. A.: Defensive spray gun filled with allyl isothiocyanate as irritant; Detection of an impurity. *Archiv Kriminol.*, **166**, 18–20 (1980).
- 10) 日本化学会: 新実験化学講座14 有機化合物の合成と反応Ⅲ, pp. 1490–1509, 丸善, 東京 (1978).
- 11) Pecháček, R., Velíšek, J. and Hrabcová, H.: Decomposition products of allyl isothiocyanate in aqueous solutions. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 4584–4588 (1997).
- 12) Stewart, W. E. and Siddall III, T. H.: Nuclear magnetic resonance studies of amides. *Chem. Rev.*, **70**, 517–551 (1970).