有機化合物の反跳トリチウム標識法*

佐藤 善重**

(田辺製薬株式会社大阪研究所)***

(昭和36年1月9日 受理)

1955年 Wolfgang および Rowland ら^{1),2)}により始められた反跳トリチウム標識法は極めて興味深いもので、核反応により生ずる反跳トリチウム原子を利用して標識化合物をつくらうとするものである。彼らはこれに関し、優れた内容あるレビュー³⁾を1956年にすでに発表している。著者ら^{4),5)}も簡単な紹介を二、三の雑誌に発表したけれども、そのご、この方面の研究は目覚ましく発達し、ようやく体系づくる糸口を得たように考えられるので、先のものとは趣を変えごく最近の理論的研究を中心にまとめてみた。

トリチウム標識化合物をつくる反跳トリチウムは、 ^3He あるいは ^6Li と中性子との反応によって生ずる。試料がガスである場合は前者を、固体の場合には炭酸リチウムを用い、液体の場合にはときおり有機酸リチウム塩を用いることがある。天然のリチウムは通常 7.4% の ^6Li を含んでいるので $^6\text{Li}(n, \alpha)^3\text{T}$ の核反応がおこり、生じたトリチウムは反跳エネルギー 2.7 MeV をもって、周囲に存在する有機化合物に衝突しながら(結晶中では $50 \mu^3$ あるいは $40 \mu^6$ の飛程があるといわれている。)だんだんエネルギーを失い、ついには化学結合エネルギーの近くまで減少し、試料中

の水素と交換して母核に残留結合する。このような経路でトリチウム標識化合物ができると考えられるが、この反応はまだ理論的にすっきりした説明がなされていない。しかし1934年 Szilard と Chalmers⁷⁾ によって報告された Szilard-Chalmers 反応に関する Libby⁸⁾ の “Billiard ball collision” で表わされる理論的考察は、トリチウム標識においてもその反応機構の筋道をたてるのに都合のよい理論である。しかし研究の進むにつれてこの理論にも矛盾した現象が現われて来ておりこれらにも少しふれたい。

1) 反跳トリチウムとガス状炭化水素の反応

Estrup および Wolfgang⁹⁾ はメタンを用い反跳トリチウムとの反応機構を詳細に検討し、実験結果と彼らによって導かれた理論式¹⁰⁾との見事な一致を見た。実験はメタンに ^3He を混じ石英アンブル中で中性子照射を行ない、 $^3\text{He}(n, p)^3\text{T}$ 反応により生ずる反跳トリチウムとメタンとの反応であり、これらの条件および反応成績体について理論的検討がなされている。試料中に I_2 , Br_2 あるいは NO を radical scavenger として混入したときは、 CH_3T および $\text{CH}_2\text{T}\cdot$ ($\text{CH}_2\text{T}\cdot$ の生成は CH_2TX の生成より間接に知ることができる)の生成量には影響なく、 HT のみ大きく影響を受け、これらの生成量は極めて少量の scavenger で激減した。このことより前2者はホットアトム反応により、後者はそれ以外の熱反応によっても生成することが明らかになった。温度に対する影響も巧みな方法で検討され、上の結果を裏付けるに役

* 昭和35年12月8日、理化学研究所核化学研究室主催“反跳現象とその応用に関するシンポジウム”で講演(東京)(Recoil Tritium Labeling Method of Organic Compounds)

** Yoshishige SATO

*** Tanabe Seiyaku Co., Ltd., Osaka Research Lab., Kashima-cho, Higashiyodogawa-ku, Osaka, Japan

立っている。さらに反跳トリチウムのエネルギーを減少させるに役立つ moderator として希ガスを加えて生成量の影響をしらべた結果, CH_3T および $\text{CH}_2\text{T}\cdot$ の生成量は $\text{He} > \text{Ne} > \text{Ar} > \text{Xe}$ の順に影響を受け, He の混入するときもっとも生成量が少ない。これは hot atom の kinetic theory に従っており, CH_3T と $\text{CH}_2\text{T}\cdot$ の生成はトリチウムの hot atom reaction によるものであると結論した⁹⁾。彼らのこの報告におけるもう1つの特徴は, 実験結果の解析にリコイル損 (L) を考慮していることである。すなわちアンプル内で生成したトリチウムガスの一部は試料ガスと反応せず, 石英アンプルの壁の中にはいり込むために生ずる反跳トリチウムの損失量を求める計算式を提出した⁹⁾。反跳トリチウムの飛程距離 r (ガス圧が 46 mmHg 圧のとき r は 4.3 mm になる) がアンプルのシリンダーの半径 R の2倍より小さい場合には計算式は次式で示される。

$r < 2R$ のとき

$$L = \frac{4}{3\pi} \left[\frac{\left(\frac{r}{2R}\right)^2 - 1}{\left(\frac{r}{2R}\right)} K\left(\frac{r}{2R}\right) + \frac{\left(\frac{r}{2R}\right)^2 + 1}{\left(\frac{r}{2R}\right)} E\left(\frac{r}{2R}\right) \right] \quad (1)$$

この (1) 式を用いて, 実際に ^3He から生じる ^3T の量より L を差し引いたものは, 実際実験で有効に利用されたトリチウム量によく一致している⁹⁾。

さらに彼らはこれより一歩進めて, hot atom により生ずる標識化合物の生成量を求める計算式を誘導するため, つぎのような仮定のもとに考察を加えていった。まず第一の仮定として反跳原子は周囲の試料ガスと連続的に衝突してエネルギーを失うという系を考える。つぎに E_2 から E_1 までのエネルギー範囲のトリチウム原子のみが hot reaction を行ない, エネルギー損失は弾性衝突によるとする。 $nE(dE)$ をエネルギー E における

衝突数, f は反跳トリチウムと試料との衝突の確率, $P(E)$ はエネルギー E において結合してしまう衝突の確立とすると, 標識化合物生成の確立 P は

$$P = \frac{N_{\text{hot}}}{N_s} = \int_{E_2}^{E_1} f P(E) n(E) dE \quad (2)$$

となる。ここで N_s は生じた反跳トリチウム原子よりリコイル損 L を差し引いた量, N_{hot} は hot atom reaction で生成した標識化合物の量, (たとえば CH_3T など) ホットアトムのエネルギーはつねに E_2 より大であり, E_1 は熱エネルギーより大きく, E_2 以上では衝突のみしてエネルギーを失い, 決して反応せず, E_1 以下では反応するにエネルギー不足とすれば

$$P = \frac{N_{\text{hot}}}{N_s} = 1 - \exp\left[1 - \frac{f}{\alpha} I\right] \quad (3)$$

$$\text{ここで } I = \int_{E_1}^{E_2} \frac{p(E)}{E} dE \quad (4)$$

α は衝突ごとに失う平均エネルギー損である。(3) 式はこの系における一種の生成物 (i) に注目するときつぎのごとき式になる。

$$\frac{N_i}{N_s} = p_i = \frac{f}{\alpha} I_i - \frac{f^2}{\alpha^2} K_i + \frac{f^3}{\alpha^3} L_i \dots \dots \quad (5)$$

(5) 式の第3項以下を無視すると

$$\frac{\alpha}{f} \cdot \frac{N_i}{N_s} \simeq I_i - \frac{f}{\alpha} K_i \quad (6)$$

で示される。 $\frac{\alpha}{f} \cdot \frac{N_i}{N_s}$ に対して $\frac{f}{\alpha}$ をプロットす

Fig. 1 Plot corresponding to equation (6) for the yield of labeled methane, CH_3T : intercept, 0.27; slope, -0.055; moderator: He ○; Ne □; Ar ▽; Xe △.

れば必然的に直線が得られるはずである。 α および f は計算より求められ、 N_i として CH_3T の量をとると、Fig. 1のごとく $\frac{\alpha}{f} \cdot \frac{N_{\text{CH}_3\text{T}}}{N_s}$ と $\frac{f}{\alpha}$ の間には直線が得られこの理論式の適合性がわかる。

この図の傾斜より K_i が、縦軸との交点より I_i が求められる。つぎには逆に I_i , K_i の値を用いて $N_{\text{CH}_3\text{T}}/N_s$ の値を求め、この値を縦軸に、横軸に moderator と試料ガスの量的な関係を示す CH_4 のモル分率をとると Fig. 2 のような曲線が得られる。この計算より求めた図表と、さきに彼らによってなされた実験結果(文献9がこれに相当する)を比較すると極めてよく一致している。Fig. 2 のカーブは計算値、○, □, ▽, △ は moderator として He, Ne, Ar および Xe を用いたときの実験値である¹⁰⁾。

Fig. 2 Plot of the relative yield of CH_3T as function of the mole fraction of CH_4 . The curves represent calculated value; moderators: helium ○; neon □; argon ▽; xenon △.

2) 反跳トリチウムと化合物中の水素との置換反応¹¹⁾

炭化水素と反跳トリチウム原子との反応は hydrogen abstraction および hydrogen displacement がその 90% を占めている。Henchman, Urch および Wolfgang¹¹⁾ は反跳トリチウム原

子が炭化水素の C-H 結合軸にそって、小さい角度で直接にはいつて来たときは置換はおこらず、水素の abstraction がおこる。何ゆえならば H と T を同じ位置にならべておくことは困難であるからである。これは Gorin および Eyring らの計算¹²⁾とよく一致するといわれている。一方反跳トリチウムが(エネルギー範囲は E_2 より E_1 まで) C-H 結合軸の周りに大きい角度で近づいて来たときは普通 H と T の displacement がおこる。これを図で示すと Fig. 3 のようになる。彼らはさらにこの abstraction と displacement のおこる比率を求める計算式を提出している¹¹⁾。

a) H Atom Abstraction

b) Displacement of H Atom

Fig. 3 Models of abstraction and displacement

Lee, Musgrave および Rowland¹³⁾ は反跳トリチウムと cyclopropane との反応を研究した結果、トリチウム標識シクロプロパンができる前に下式のように、トリチウム原子と結合した衝突複

合中間体ができる」と報告し、このときできる種々の化合物はガスクロマトグラフィカラムで分離し、出口にとりつけてある比例計数管で測定している。一方 Henschman および Wolfgang ら¹¹⁾ はこのような中間複合体は存在しないという証明に下記のような理由を述べた。反跳トリチウムとメタン反応においてはつぎのような中間体ができ、これが下記のような分解形式をたどるという系を仮定した時、ここでは実験上検出し得る反応

は上段の式であり、下段の式は右辺と左辺が共通なものがあるゆえ論議の対照にはならない。上段の式について HT と $\text{CH}_3\text{T} \cdot$ の生成の統計学的比率は 2:3 の値が期待されるはず、ところが Wolfgang らのさきの実験ではこれらの比率が 9:1 になっている¹⁴⁾。このことは H と T の同位体効果を考慮しても支持できぬものである。さらにさきにも記載したように hot reaction の 90% が hydrogen abstraction と displacement で、10% 以下 alkyl group の displacement があるという実験事実は、C-H 結合 (87 kcal) の切断の可能性が、より弱い C-C 結合 (58 kcal) のそれより数倍上であることに矛盾をもたらすゆえ、hot atom の反応において displacement 反応は衝突中間複合体を通して行なわれるものではないということが証明され得ると述べ、Rowland らの衝突複合体である中間生成物のできるといふ報告に反論している¹⁵⁾。

しかしながらここにもう 1 つの興味ある事実がある。これはトリチウムではなく反跳炭素原子の反応であるが、反跳原子の反応考察を助けるもの

と考えるので記載しよう。Kay, Pandow, Polak および Wolfgang¹⁶⁾ は反跳 ^{14}C を用いて、alkane 類との反応を検討したところ、 ^{14}C が一度分子内にはいり衝突複合体をつくってのち、つぎに分解反応をおこすと考えねば説明のつかぬ事実のあることを述べている。すなわち alkane 類と反跳 ^{14}C との反応結果の生成物には 30% 以上のアセチレンが得られ、とくに cyclopropane における場合はアセチレンが 65% できる。そこで彼らはつぎのような衝突複合中間体の生成反応を考えた。

以上のような事実は炭素と水素の性質の相違から起こるかもしれないが、hot atom の反応機構の解明はさらに将来に持ちこされていると筆者は考えている。

3) 不飽和結合に対する反跳トリチウムの反応

Urch および Wolfgang ら¹⁰⁾ は alkane 類と反跳トリチウムとの反応を検討し、トリチウムが二重結合に付加する反応の存在を認め、この反応の結果トリチウムで標識された二重結合を有する fragment の生成する機構はつぎのようなものであると報告している。反跳エネルギーをもつトリチウムがまず hot free radical をつくりながら、alkane の二重結合に付加し、この遊離基は再結合することなく、炭素-炭素間の結合を切って分解する。このような反応は非常に高い運動エネルギーおよび低いエネルギーではおこらず、熱エネルギー領域以上でのみ効果的に起こるという意味の“Epithermal reaction”という言葉を使用している。Lee, Musgrave および Rowland ら¹⁷⁾ もまた trans-butene-2, cis-butene-2, isobutylene および propylene と反跳トリチウムとの反応を検討した結果、Wolfgang ら¹⁰⁾ の実験結果と同様になり、つぎのような一般式を提出している。

White および Rowland¹⁸⁾ はさらにフマル酸とマレイン酸を用いて実験を行なった結果、フマル酸よりトリチウム標識マレイン酸が、マレイン酸よりトリチウム標識フマル酸が放射性母核物質の 5% 以下であるけれどもできていると報告している。さらに生成物中には付加反応でできたと考えられるコハク酸が相当量できていることを認めている。三重結合をもつ phenyl propiolic acid の場合はつぎのようになる

このようにしてできたケイ皮酸 (cinnamic acid) は trans 型が 90% 以上である¹⁸⁾。トリチウムガス接触法においても相当量の付加反応が認められている⁴⁷⁾。

4) Isomerization

hot atom reaction でもう 1 つ重要なことは異性化の問題である。前節で異性化のおこることを、少しのべたが、これは二重結合のある場合で特殊なケースと考えられる。一般的なすなわち飽和有機化合物における場合および光学異性体について述べよう。Rowland ら^{2), 20)} は早くよりこの問題にとりくみ、ブドウ糖よりトリチウム標識ブドウ糖をつくる最初の研究において異性化が起こるや否やにも関心をもっていただようであった。いずれにしても異性体である T-galactose は見つけ得なかったと述べる方が妥当であるという報告内容であり、のちの論文²¹⁾では異性化は起こらなかったとはつきり記載してある。Kay, Malson および Rowland らはこれを追求するため容易に

分割できる簡単な化合物で、光学活性な L(+)-alanine を用いて実験したが²¹⁾、中性子照射後 alanine を分割するためのベンゾイル化の操作でラセミ化がおこり、このため取り出された D(-)-alanine は反跳トリチウムによるものかあるいは化学的処理のさいにできたものか判明しないと述べている。Brown と Garnett²²⁾ は光学活性の octyl phthalate と反跳トリチウムの反応より、光学異性体の octyl phthalate を得ているが注意してこの報文を見ると比放射能が低いことがわかる。われわれも DL-threonine と炭酸リチウムを混ぜ、原研 JRR-1 で 2.5×10^{11} n/cm²·sec の中性子を 17 時間照射したのち、トリチウム標識アミノ酸をペーパークロマトグラフィにより分離したところ、DL-threonine, allo-threonine および glycine を得、それぞれの比放射能は 0.032 μ C/mg, 0.108 μ C/mg および 0.011 μ C/mg であった²³⁾。しかしながら allo-体のように異性化された化合物ができたという事実からのみで、反跳トリチウムが不斉炭素に結合している水素と置換するとき configuration を変えたとは言いきれない。別の理由も考えられるからである。すなわち反跳トリチウム以外の放射線によって、すでに異性化がおこり、不斉炭素の水素またはほかの炭素に結合する水素がトリチウムによって、置換したということも考えられる。Brown ら²²⁾ の実験およびわれわれのそれはともに比放射能が低く、多くの damage を生じていることがわかるから、後者の可能性が大である。原子炉内での実験による場合はほかの放射線の影響が大きな因子となるので、実験結果を解析して、反応を知ろうとするときはしばしばほかの要因を考慮せねばならないから複雑になる。このような現象は核断面積の小さい ¹⁴N(n, p)¹⁴C 反応の場合には著しいゆえ、¹⁴C-反跳標識機構を論ずることには困難がある。Henchman, Urch および Wolfgang¹⁵⁾ は反跳炭素原子の反応機構を知るために、つぎのような実験方法を取っている。すなわち加速器で 120 MeV の ¹²C イオンビームをつくり銀の箔にあて

中性子交換によって反跳 ^{11}C をつくり、 ^{12}C のイオンビームは決して試料にあたらずに、反跳 ^{11}C のみが試料と反応するように工夫している。この ^{11}C は半減期が 20.5 分であるゆえ、反応生成物は反跳 ^{11}C のみの影響を考えればよいので解析が非常に容易である。トリチウムの場合もこのような配慮が望ましく、反跳原子反応の研究に今後要求される事柄である。Estrup および Wolfgang の最近の報告⁹⁾では radiation damage を防ぎ、反応機構を正確に知るために照射時間をできるだけ短縮し、2~3 分ぐらいで止め、照射後試料を取り出すまではドライアイスで試料を冷やすという、注意が払われている。

試料が反跳トリチウムによって異性化する可能性があっても、固体の場合には結晶格子によって妨げられるのであろうという考慮から、光学活性の第2級ブチルアルコールの蒸気と反応トリチウムの反応が検討されたが、configuration にはいかなる変化もなかったことが述べられている¹¹⁾。異性化の問題も今後に解決が残されているようである。

5) 標識化合物のトリチウムの分布

Wolfgang, Rowland らによって最初に行なわれた実験はブドウ糖の標識化で、発生したトリチウムの 12% が C-H 結合の位置に見い出され²⁾、これがどのような分布になっているかを知るため、osazone, phenylhydrazone のような誘導体としたり、あるいは分子の degradation させた結果、1, 2, 3, 4, 5, 6 および 6' の炭素位には 3, 6, 29, 14, 0, 24, 24 となって分布は均一でないことを示している²⁾。Keller および Rowland の再度の研究報告²⁰⁾には、この分布が 3, 6, 50, 2, 23, 8 および 8 と変化し、実験条件によってこの分布の異なっていることを知ることができる。Bradlow, Fukushima, Tsutsui ら²⁴⁾は methyl cholate を標識し、トリチウムの分布を degradation によって検討したところ、やはり均等に分布しているのではなくて、位置により相当開きのあるこ

と、側鎖においても多いところと、メチル基の極端に少ない分布とが見い出されている。

芳香族化合物になると分布の状態がはっきりし、面白い結果が現われてくる。第1の例として安息香酸を挙げよう。Brown ら²⁵⁾はトリチウムの分布をしらべた結果 meta 位は ortho および para にくらべ 20% 少ないことを見い出している。Brown と Garnett ら²⁶⁾は安息香酸イソプロピルエステルを用いフェニル基とイソプロピル基のトリチウムの置換度の割合をしらべている。このときのトリチウム塩としてミリスチン酸トリチウム塩が用いられた。第1級炭素、第2級炭素およびリング内に分布されているトリチウムの量は 1.0 : 1.3 : 2.7 の比であった²⁶⁾。Brown, Kaplan ら²⁵⁾は toluic acid の ring hydrogen には methyl hydrogen の2倍のトリチウムが見い出されたと 1956 年に報告している²⁵⁾。1960 年になるとこの種の研究内容はさらに詳細に行なわれ、White, Rowland¹⁸⁾ らは cis および trans-cinnamic acid とこの塩および安息香酸と反跳トリチウムとの反応を研究し、得られた標識母核分子中のトリチウムの分布をしらべ Table 1 のような結果を得ている¹⁸⁾。

Table 1: Intermolecular distribution of T-activity in aromatic acids

Irradiated compds. H position	Benzoic acid	cis-Cinnamic acid	trans-Cinnamic acid	Na-Cinnamic acid
Ortho	21.3	12.5	20.5	22.5
Meta	18	24	19	17.5
Para	21	27	21	20
α -H		} 13	9	26
β -H			14	17

以上の表よりわかるように、安息香酸に関するデータはさきの Brown らの実験値とよく一致し、cinnamic acid の場合、trans のときは安息香酸の場合と同様 ortho > para > meta の順に分布は減少し、一方 cis の場合は ortho 位は meta お

よび *para* 位の約半分である。おそらく $-\text{COOH}$ 基による立体障害のためであろうと Rowland らは報告している。Zifferero²⁸⁾ はトルールでは *ortho* : *meta* : *para* = 44.1 : 37.5 : 18.4 の比であることを述べている。言うまでもなく hot reaction は thermal reaction とはその機構が根本的に異なるわけであるから、芳香族化合物の化学反応における核置換の法則と何んら関係がなくてよいわけである。しからば hot reaction の核置換の法則はどのような因子に支配されるかということも今後に残された興味ある問題と筆者は考えている。このような問題の解答の一助ともなるべきデータが、ごく最近に同じく White および Rowland によって報告されている²⁹⁾。置換基として $-\text{NH}_2$, $-\text{NO}_2$, $-\text{OH}$, $-\text{COOH}$, $-\text{F}$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$, $-\text{I}$ を含む安息香酸と反跳トリチウムとの反応を検討し、これらの基とトリチウム原子の置換の割合を求めている。*ortho* 位に I のある場合にはもっとも多く 58% で、もっとも少ないのは *meta* 位に NH_2 基の約 2% である。 Br が *ortho*, *para* および *meta* に結合しているときの置換の割合は 32%, 16% および 15% の順で NH_2 の場合は 4.4%, 3% および 2% の値を示した。この置換する割合を縦軸に、横軸に置換基とフェニル基との間の結合力を取ると Fig. 4 のようになる。

図よりわかるように I , Br , Cl の間にはかなりスムーズな曲線が得られて置換度と結合力の間に関係のあることがわかる。これをさらに理論的に掘り下げて考えるとき必然的に問題になってくることは Libby の “Billiard ball collision theory” に従うかどうかである。この理論によれば hot atom の運動エネルギーは衝突によって順次エネルギーを失うが、最大のエネルギー損失は $4mM/(m+M)^2$ の場合で、同じ質量のものが衝

Fig. 4 Relative ease of replacement of different *o*-substituted groups on benzoic acid

突したときエネルギーはもっとも多く失われ、質量の差異がだんだんずれてゆくと少なくなるはずである。このことより考慮すると反跳トリチウムは $\text{Cl} > \text{Br} > \text{I}$ の順に置換度が増すはずのところ、実際は逆になっていて、置換基とフェニル基との化学結合力の小さいものほど置換度が大きいという結果を得ている。

ここにも Libby の理論に従わない実際例が認められたわけである。

6) 標識法の実例

反跳トリチウムと有機化合物の反応によって得られた標識化合物の文献を下記表によって示す。このうち文献 3 は Rowland, Wolfgang によって報告されたレビューを示し、筆者の調査したものではない。

Table 2: Tritium recoil labeling of organic compounds

Compounds	Experimentals	Literature
alkane (CH ₄ , C ₂ H ₆)	Wolfgang, Eigner, Rowland	30
	Henchman, Urch, Wolfgang	11
	Sauer, Willard	31
	El-Sayed, Wolfgang	32
	Gordus, Sauer, Willard	33
	El-Sayed, Estrup, Wolfgang	14
	Estrup, Wolfgang	9, 10
alkene	Urch, Wolfgang	16
<i>trans</i> and <i>cis</i> -alkene	Lee, Musgrave, Rowland	17
ethyl alcohol	Hoff, Rowland	34
cyclopropane	Lee, Musgrave, Rowland	13
toluene	Zifferero	28
	Aliprandi, Cacace	35
benzoic acid	Kaplan, Brown	3, 25
isopropyl benzoate	Brown, Garnett	26
substituted benzoic acid	White, Rowland	29
nicotinic acid	Kaplan	3
	Christman, Anderson	3
<i>ortho</i> -toluic acid	Kaplan, Brown	25
phenyl acetic acid	Wolfgang, El-Atrash	3
salicylic acid	Kaplan	3
para-amino salicylic acid	Hanngren, Rydberg	39
cinnamic acid	Kaplan	3
unsaturated acid (cinnamic acid fumaric acid phenyl propiolic acid)	White, Rowland	18
<i>ortho</i> -phthalic acid	Kaplan	3
anthracene	Brown, Kaplan, Dyken, Wilzbach	25
glucose	Rowland, Turton, Wolfgang, Keller	1, 2, 20
glucose and lactose	Sato, Meshi, Takahashi	36
galactose	Keller, Rowland	20
L-alanine	Kay, Malsan, Rowland	21
DL-threonine	Sato, Meshi, Takahashi	23
α -methyl glucoside	Rowland, Turton	3
cholestane	Tsutsui	3
methyl cholate	Bradlow, Fukushima, Tsutsui	24
reserpine	Rowland, Numerof	3
stearic acid	Sato, Meshi, Takahashi	37
D-ribose	Gordon, Intrieri, Brown	38
octyl phthalate	Brown, Garnett	22
17- α -hydroprogesterone	" "	
tetracycline	Andre	41
α -hydroximinopropionic acid	Sato, Meshi, Takahashi	42

7) 反跳トリチウム標識法の問題点

前項までに反跳トリチウム標識法の最近の発達を検討しながらその項目ごとに将来に残された問題も記載したが、改めてここにまとめてみることにしよう。この項は筆者の考えが主体になっているので偏見になっているやも知れず、間違った内容であるかもしれぬことを内心恐れている。

7.1. 理論的研究 この問題については、Yale 大学の Wolfgang, Kansas 大学の Rowland あるいは Wisconsin 大学の Willard ら¹⁹⁾の研究室で活発に行なわれているが、まだ残された課題が多く、とくに芳香族化合物における核置換の法則、異性化の問題などがそれである。

7.2. 比放射能 反跳標識法以外のトリチウム標識法には化学的方法、接触法、放電法などがあるが、いずれも反跳法で得られるものより比放射能が高い。たとえば 1960 年の初めには化学的方法で Gut ら⁴³⁾ 30 mc/mg のステロイドを、そののちに Glascock ら⁴⁴⁾は 118 mc/mg の hexo-sterol を合成している。反跳法では高々 0.1 μ c/mg であるゆえ、比放射能について格段の見おとりがある。そこでこの方法を用いても比放射能の高いものをつくる 1 つの案として筆者は照射試料の選択があるように思う。Rowland らの研究によれば芳香族化合物においてトリチウムの挿入は置換基のある方が大である²⁹⁾。ゆえに目的化合物をあらかじめヨウ素化合物にしておけば反跳トリチウムはヨウ素と交換して目的物は比放射能の高いものがとれるはずである。もちろんこのとき目的物質(ヨウ素のない化合物)とヨウ素化合物は分離が容易なものでなければならぬ。Wolfgang あるいは Rowland らの不飽和化合物と反跳トリチウムの反応に関する報告を詳細にしらべると、二重結合へのトリチウムの付加が相当行なわれている¹⁶⁾¹⁷⁾。もしも付加物と不飽和化合物(試料)が分離できるものであれば比放射能の高い化合物が得られるはずである。そこでこの目的にそうものとしてわれわれは α -オキシムを選んだ、何ゆえなら

ばオキシムとそのアミノ酸は比較的分離が容易であるからである。しかし比放射能の高いアミノ酸の分離はただ 1 回の実験では十分目的にそう結果は得られなかった⁴²⁾。

7.3. Radiation damage この標識方法においては反跳トリチウム、 α 粒子、 γ 線あるいは中性子線などによって radiation damage を生じ³⁾、これが標識母体の精製に極めてやっかいであり、生成物をもととして反応機構を論ずるのに障害になる。このような damage を除く方法として Wolfgang ら²⁷⁾はトリチウムを 100 eV 以下に加速して有機物を標識することに成功した。しかしこれは Wilzbach によって加速トリチウムによるものではないことが証明され⁴⁰⁾、われわれの結果も Wilzbach の考察を支持するものであるが⁴⁰⁾、放電法による標識法の糸口になった研究として高く評価されるものと思う。この damage を除く問題は将来の課題として残されている。

7.4. Purification 目的とする標識化合物ができるとともに、放射性の radiation damage が量は少ないが数多くできる。これらは簡単な再結晶では取り除くことができない。たとえばブドウ糖を標識するとき、原子炉より取り出したもののペーパークロマトグラフィは種々のスポットが見い出され、その中にはグルクロン酸、グルコン酸あるいは糖酸などがブドウ糖の前後に群がってスポットをつくっているが³⁶⁾、ブドウ糖を一度アセチル化して再結晶を繰返えし、のちアセチル基をはずして得たブドウ糖は極めて純粋であった。それゆえこのようにほかの化合物に変えて純粋にするとかあるいはカラムクロマトグラム、ガスクロマトグラムで分離精製¹⁹⁾⁴⁶⁾する方法がとられねばならない。再結晶あるいは化学的処理して精製するとき変質あるいは異性化する²¹⁾ことなどがあるから必ずブランク試験をする必要がある²⁹⁾。

本総説において文献番号 No. 11, No. 15 の論文は筆者のために Yale 大学の Wolfgang 教授が親切に送ってくれたものである。心より同教授に

感謝したい。また大阪大学音在教授に種々のご教示を受けた。ここに厚くお礼を申し上げる。

文 献

- 1) R. Wolfgang, F. S. Rowland and C. N. Turton: *Science*, **121**, 715 (1955)
- 2) F. S. Rowland, C. N. Turton and R. Wolfgang: *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 2354 (1956)
- 3) F. S. Rowland and R. Wolfgang: *Nucleonics*, **14**, (8) 61 (1956)
- 4) 佐藤善重, 飯照彦: 田辺製薬研究年報 **5**, (1) 1 (1960); 薬学研究 **32**, (4) 1 (1960) および **32**, (5) 1 (1960)
- 5) 佐藤善重: 原子力工業 **8**, 27 (1960)
- 6) W. J. Hoff and F. S. Rowland: *J. Inorg. Nuclear Chem.*, **5**, (3) 164 (1958)
- 7) L. Szilard and T. A. Chalmer: *Nature*, **134**, 462 (1934)
- 8) W. F. Libby: *J. Am. Chem. Soc.*, **69**, 2523 (1947)
- 9) P. J. Estrup and R. Wolfgang: *ibid.*, **82**, 2661 (1960)
- 10) P. J. Estrup and R. Wolfgang: *ibid.*, **82**, 2665 (1960)
- 11) M. Henchman, D. Urch and R. Wolfgang: "High Energy Reaction of Atomic Hydrogen"; Contribution # 1625 from the Sterling Chemistry Laboratory, Yale Univ.; We received this report as kind private communication from Prof. Wolfgang.
- 12) E. Gorin, W. Kauzmann, J. Walter and H. Eyring: *J. Chem. Phys.*, **7**, 633 (1939)
- 13) J. K. Lee, B. Musgrave and F. S. Rowland: *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 3803 (1959)
- 14) M. A. El-Sayed, P. J. Estrup and R. Wolfgang: *J. Phys. Chem.*, **62**, 1356 (1958)
- 15) C. M. Kay, M. Pandow, P. Polak and R. Wolfgang: "On the Elementary Chemistry of Atomic Carbon"; Contribution from the Sterling Chemistry Laboratory, Yale Univ.; We received this report as kind private communication from Prof. Wolfgang. This report was presented in International Atomic Energy Agency in Prague, 24 Oct. 1960 by Prof. R. Wolfgang.
- 16) D. S. Urch and R. L. Wolfgang: *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 2025 (1959)
- 17) J. K. Lee, B. Musgrave and F. S. Rowland: *ibid.*, **82**, 3545 (1960)
- 18) R. M. White and F. S. Rowland: *ibid.*, **82**, 5345 (1960)
- 19) J. B. Evans, J. E. Quinlan and J. E. Willard: *Ind. and Eng. Chem.*, **50**, 192 (1958)
- 20) H. Keller and F. S. Rowland: *J. Phys. Chem.*, **62**, 1373 (1958)
- 21) J. D. Kay, R. P. Malsan and F. S. Rowland: *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 5050 (1959)
- 22) W. G. Brown and J. L. Garnett: *Radiation and Nuclear Chem.*, 575 (1958)
- 23) Y. Sato, T. Meshi and T. Takahashi: *Bull. Chem. Soc. Japan*, **33**, 1146 (1960)
- 24) H. L. Bradlow, D. K. Fukushima and M. Tsutsui: *Chem. and Ind.*, **5**, 1124 (1959)
- 25) W. G. Brown, L. Kaplan, A. R. Van Dyken and K. E. Wilzbach: "Proceedings of the International Conference on the Peaceful Use of Atomic Energy" **15**, 16 (1956, New York)
- 26) W. G. Brown and J. L. Garnett: *Int. J. Appl. Rad. Isotopes*, **5**, (2) 114 (1959)
- 27) R. Wolfgang, T. Pratt and F. S. Rowland: *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 5132 (1956)
- 28) M. Zifferero: *Energia Nucleare*, **4**, 479 (1957)
- 29) R. M. White and F. S. Rowland: *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 4713 (1960)
- 30) R. Wolfgang, J. Eigner and F. S. Rowland: *J. Phys. Chem.*, **60**, 1137 (1956)
- 31) M. C. Sauer, Jr. and J. E. Willard: *ibid.*, **64**, 359 (1960)
- 32) M. A. El-Sayed and R. Wolfgang: *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 3286 (1957)
- 33) A. A. Gordus, M. C. Sauer, Jr. and J. E. Willard: *ibid.*, 3284 (1957)
- 34) W. J. Hoff, Jr. and F. S. Rowland: *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 4867 (1957)
- 35) B. Alipandi and F. Cacace: *Ricerca Sci.*, **30**, 90 (1960)

- 36) Y. Sato, T. Meshi and T. Takahashi: *Bull. Chem. Soc. Japan*, (in press) 日本化学会総会で発表
- 37) Y. Sato, T. Takahashi and T. Meshi: *ibid.*, 34, (2) 167 (1961)
- 38) M. P. Gordon, O. M. Intrieri and G. B. Brown: *J. Am. Chem. Soc.*, 80, 5161 (1958)
- 39) A. Hanngren and J. Rydberg: *Acta Chemica Scand.*, 11, 202 (1957)
- 40) L. M. Dorfman, and K. E. Wilzbach: *J. Phys. Chem.*, 63, 799 (1959)
- 41) T. Andre: *Antibiotics and Chemotherapy*, 8, (4) 196 (1958)
- 42) Y. Sato, T. Meshi and T. Takahashi: 36年4月
- 43) M. Gut and M. Uskokovic: *Naturwiss.*, 47, Heft 2, 40 (1960)
- 44) R. F. Glascock and G. S. Pope: *Biochem. J.*, 75, 328 (1960)
- 45) Y. Sato, T. Meshi, T. Takahashi and N. Sugimoto: *Tanabe Seiyaku Kenkyū Nempō*, 5, (1) 57 (1960)
- 46) R. Wolfgang and F. S. Rowland: *Anal. Chem.*, 30, 903 (1958)
- 47) E. P. Jones, L. H. Mason, H. J. Dutton and R. F. Nystrom: *J. Org. Chem.*, 25, 1413 (1960)
-