

• 研究简报 •

{苯基-[(吡啶-4-羰基)-氨基]-甲基}-磷酸二烷基酯的合成与波谱表征

方 华^a 方美娟^a 留筱厦^a 许鹏翔^a 赵玉芬^{*,a,b}^a 厦门大学化学化工学院福建省化学生物学省重点实验室 厦门 361005)^b 清华大学生命有机磷化学及化学生物学教育部重点实验室 北京 100084)

摘要 α -氨基磷酸及其衍生物作为天然氨基酸的含磷类似物, 具有多种生物活性, 它的合成与性质的研究引起人们的浓厚兴趣. 合成了一系列含磷化合物, 产物经元素分析、红外光谱、核磁共振、质谱鉴定, 并初步研究这些化合物的抗菌与抗肿瘤生物活性.

关键词 α -氨基磷酸; 合成; 波谱表征; 生物活性

Synthesis and Spectral Characterization of {Phenyl-[(pyridine-4-carbonyl)amino]methyl}phosphonic Acid Dialkyl Ester

FANG, Hua^a FANG, Mei-Juan^a LIU, Xiao-Xia^a XU, Peng-Xiang^aZHAO, Yu-Fen^{*,a,b}^a Key Laboratory for Chemical Biology of Fujian Province, Department of Chemistry, Xiamen University, Xiamen 361005)^b Key Laboratory for Bioorganic Phosphorus Chemistry and Chemical Biology, Ministry of Education, Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084)

Abstract α -Aminophosphonic acids and their derivatives, as phosphorous analogs of amino acid, have attracted much attention because they show wide biological activities. In this paper, the title compounds, {phenyl-[(pyridine-4-carbonyl)amino]methyl}phosphonic acid dialkyl esters, were synthesized via Mannich reaction and peptide coupling reaction. Their structures were confirmed by elemental analysis, IR, ¹H NMR, ¹³C NMR and MS spectra, and the antibacterial and antitumor activities of these compounds were given in this paper.

Keywords α -aminophosphonic acid; synthesis; spectral characterization; biological activity

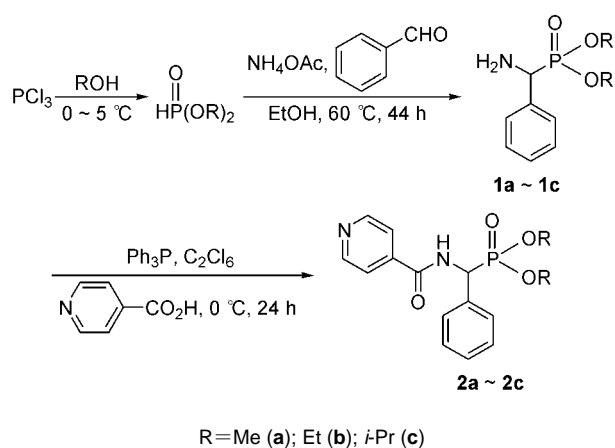
α -氨基磷酸与天然氨基酸具有结构上的类似性^[1], 显示良好的生物活性如: 除草^[2]、植物生长调节、杀菌、抗病毒及酶的抑制剂等^[3]. 二烷基磷酸酯类化合物具有螯合结构, 有良好的配位性能, 易形成双核配合物, 可以用来研究电子在二烷基磷酸酯类物质中的转移能力^[4]. 对 α -氨基磷酸及其衍生物的研究, 主要是将 α -氨基磷酸的母体与其他有某种生物活性的结构单元相连, 合成出结构新颖的 α -氨基磷酸及其衍生物, 希望找到高

活性、低毒的农药和医药新品种^[5]. 本论文采用稍加修改的 Ph_3P 和 C_2Cl_6 法^[6,7]进行酰胺键的缩合(Scheme 1), 此法为一步反应, 中间体活化酯不需提纯, 反应几乎是定量. 它具有原料便宜易得、条件温和、操作方便、易提纯和收率高等特点^[8], 是合成酰胺键的有效方法之一. 并发现所合成的含磷化合物都具有一定的抗菌抗肿瘤生物活性, 所以合成这类化合物就具有很重要的意义, 下面就这些化合物的具体合成做系统介绍.

* E-mail: yfzhao@xmu.edu.cn; Fax: 0592-2185780; Tel.: 0592-2185780.

Received June 7, 2004; revised October 10, 2004; accepted November 10, 2004.

福建省重点基金(No. 2001F008)资助项目.



Scheme 1

1 实验

1.1 仪器与试剂

Yanaco 显微熔点仪, 温度计已加校正; 元素分析 EA 由 Flash EA 1112 元素自动分析仪给出; 红外 IR 由 Nicolet AVATAR 360 FT-IR 计记录, 溴化钾压片; 核磁 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR Varian 500 Hz 型仪器测定, D_2O 或 CDCl_3 为溶剂, TMS 为内标; 质谱 MS 由 Bruker ESQSUIRE-3000 离子阱型质谱仪测定; M3550 型酶标仪(测量波长 570 nm, 参考波长 655 nm)。

试剂与溶剂为化学纯或分析纯, 用前要进一步处理。

1.2 实验步骤

1.2.1 α -氨基苄基膦酸二烷基酯的盐酸盐(1a~1c)的制备

冰浴下三氯化磷与相应的醇反应得到相应的二烷基亚磷酸酯。 α -氨基苄基膦酸二烷基酯的盐酸盐(1a~1c)根据文献的方法制备, 制备得到的产物 1a~1c 与文献报道一致^[9-11]。

1.2.2 {苯基-[(吡啶-4-羧基)-氨基]-甲基}-膦酸二烷基酯的制备

冰浴下, 干燥过的 15 mL 1,2-二氯乙烷中加入 Ph_3P (3.93 g, 15 mmol) 和 C_2Cl_6 (3.58 g, 15 mmol), 反应 1 h; 反应液慢慢加到 90 mL 溶有 α -吡啶酸(1.23 g, 10 mmol), α -氨基苄基膦酸二烷基酯的盐酸盐(10 mmol) 和 Et_3N (4 mL) 的干燥 1,2-二氯乙烷中, 反应 24 h, 以上反应均在无水无氧的条件下进行。反应溶液滤去三乙胺盐, 滤液旋干, 再加入 30 mL 乙醇。此溶液用 0.5 mol/L HCl 酸化至 pH 为 1~2, 乙醚洗涤两次除去有机相, 水相用 4% NaOH 调 pH 至 11, 二氯甲烷萃取产物, 浓缩, 干燥, 粗产物在乙酸乙酯和石油醚混合液里重结晶, 即得产物。

{苯基-[(吡啶-4-羧基)-氨基]-甲基}-膦酸二甲酯(2a): 白色晶体, 产率 76.5%, m.p. 134.1~135.5 °C; ^1H

NMR (CDCl_3) δ : 9.46~9.92 (m, NH), 8.58 (d, $J=5$ Hz, 4H, Py), 7.20~7.60 (m, 5H, ArH), 5.42 (dd, $J_{\text{P-CH}}=21$ Hz, $J_{\text{NH-CH}}=9$ Hz, 1H, CH), 4.02 (s, 6H, 2OCH₃); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 149.44, 123.94, 145.22 (Py), 133.69, 128.90, 127.25, 128.73 (Ar), 168.28 (C=O), 52.39 (CH), 55.55, 53.93 (2OCH₃); IR (KBr) ν : 3402 (N—H), 1662 (C=O), 1225 (P=O), 1074 (P—O—C), 1557, 1511, 1495, 1453 (芳环骨架振动) cm^{-1} ; MS m/z (%): 210.9 (19.48), 321 ($\text{M}+\text{H}^+$, 100), 641.0 ($2\text{M}+\text{H}^+$, 1.01). Anal. calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_4\text{P}\cdot\text{H}_2\text{O}$: C 53.26, H 5.66, N 8.28; found C 53.55, H 5.54, N 8.09.

{苯基-[(吡啶-4-羧基)-氨基]-甲基}-膦酸二乙酯(2b): 白色晶体, 产率 82.0%, m.p. 107.0~108.1 °C; ^1H NMR (CDCl_3) δ : 7.86~8.37 (m, NH), 8.18 (d, $J=5$ Hz, 4H, Py), 7.23~7.62 (m, 5H, ArH), 5.76 (dd, $J_{\text{CH-NH}}=9$ Hz, $J_{\text{P-CH}}=21$ Hz, 1H, CH), 3.98 (t, $J_{\text{CH}_2\text{-CH}_3}=8$ Hz, 4H, 2CH₂-CH₃), 1.22 (d, $J_{\text{CH}_2\text{-CH}_3}=8$ Hz, 6H, 2CH₂CH₃); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 150.51, 121.19, 140.84 (Py), 134.64, 128.47, 128.17, 128.78 (Ar), 165.09 (C=O), 51.40 (CH), 63.72, 63.20 (2CH₂CH₃), 16.44, 16.10 (2CH₂CH₃); IR (KBr) ν : 3440 (N—H), 1664 (C=O), 1244 (P=O), 1032 (P—O—C), 1596, 1546, 1500, 1456 (芳环骨架振动) cm^{-1} ; MS m/z (%): 211.0 (17.77), 348.9 ($\text{M}+\text{H}^+$, 100), 696.7 ($2\text{M}+\text{H}^+$, 10.16). Anal. calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_4\text{P}$: C 58.62, H 6.08, N 8.04; found C 58.44, H 6.10, N 7.95.

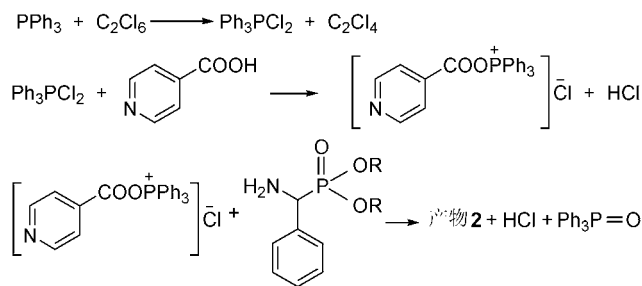
{苯基-[(吡啶-4-羧基)-氨基]-甲基}-膦酸二异丙基酯(2c): 白色晶体, 产率 85.1%, m.p. 134.3~135.7 °C; ^1H NMR (CDCl_3) δ : 7.58~8.26 (m, NH), 8.18 (d, $J=5$ Hz, 4H, Py), 7.18~7.72 (m, 5H, ArH), 5.72 (dd, $J_{\text{P-CH}}=21$ Hz, $J_{\text{NH-CH}}=9$ Hz, 1H, CH), 4.50 [d, $J_{\text{CH-CH}_3}=6$ Hz, 2H, 2CH(CH₃)₂], 1.20 [d, $J_{\text{CH-CH}_3}=6$ Hz, 12H, 2CH(CH₃)₂]; ^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 150.26, 121.42, 141.15 (Py), 135.13, 128.61, 128.15, 128.65 (Ar), 165.39 (C=O), 51.27 (CH), 72.48, 71.96 [2CH(CH₃)₂], 24.12, 24.01, 23.86, 23.81 [2CH(CH₃)₂]; IR (KBr) ν : 3448 (N—H), 1676 (C=O), 1231 (P=O), 1009 (P—O—C), 1661, 1600, 1537, 1491 (芳环骨架振动) cm^{-1} ; MS m/z (%): 211.0 (40.38), 377.0 ($\text{M}+\text{H}^+$, 100), 752.8 ($2\text{M}+\text{H}^+$, 22.63). Anal. calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_4\text{P}$: C 60.63, H 6.69, N 7.44; found C 60.49, H 6.74, N 7.33.

2 结果与讨论

2.1 合成及反应机理

根据文献报道^[9]的方法, 用类 Mannich 反应^[12,13]制

备得到 α -氨基苄基磷酸二烷基酯的盐酸盐。{苯基-[吡啶-4-羰基]-氨基]-甲基}-磷酸二烷基酯的制备是由三苯基磷和六氯乙烷法在无氧无水的条件下由稍加修改的文献方法进行, 根据文献报道^[6,7], 其反应的机理可能按照 Scheme 2 所描述的反应机理进行。



Scheme 2

此反应的主要特点有: 反应条件温和、副产物少、产品易提纯、原料便宜易得、产率高等诸多优点, 是缩合酰胺键的重要方法之一。

2.2 IR 光谱

2a~2c 这三个化合物的红外光谱在 $1660\sim 1676\text{ cm}^{-1}$ (s)有强的吸收峰, 是羰基的伸展振动吸收峰($\nu_{\text{C=O}}$); 在 $3402\sim 3448\text{ cm}^{-1}$ (s)有强吸收, 是酰胺的 N—H 伸展振动吸收峰($\nu_{\text{N-H}}$); **1a~1c**, **2a~2c** 的化合物在 $1596\sim 1604$ (s)和 $1511\sim 1546\text{ cm}^{-1}$ (s)有强吸收, 是芳环碳骨架伸展振动吸收峰($\nu_{\text{芳环}}$); 在 $1225\sim 1246\text{ cm}^{-1}$ (s)有强吸收, 是磷氧双键伸展振动吸收峰($\nu_{\text{P=O}}$); 在 $1009\sim 1074\text{ cm}^{-1}$ (s)有强的双峰吸收峰, 是 P—O—C 的伸展振动吸收峰($\nu_{\text{P-O-C}}$)。这就表明这些化合物里既有芳环, 羰基,

又有酰胺键、磷氧双键、磷氧键。

2.3 ^1H NMR 谱

化合物 **1a~1c** 的 ^1H NMR 在 $\delta 5.0$ 附近都显示有双重裂峰, 由于 NH_2 上的氢被氘代掉, 无法对苄甲基上的氢进行偶合裂分, 因此苄甲基上的氢只被磷裂分成二重, 其偶合常数 $J_{\text{P-CH}}$ 为 18 Hz。化合物 **2a~2c** 的 ^1H NMR 在 $\delta 5.5$ 附近有一四重裂峰, 从 ^1H - ^1H 相关谱和 ^1H - ^{31}P 相关谱可以知道: 苄甲基上的氢先被酰胺上的氢裂分, 其偶合常数 $J_{\text{NH-CH}}$ 是 9 Hz, 然后再被磷裂分, 其偶合常数 $J_{\text{P-CH}}$ 是 21 Hz, 故在氢谱上看到四重裂峰, 倘若用氘代水取代氘代氯仿, 由于酰胺上的活泼氢被氘代掉, 在氢谱里苄甲基只能观测到被磷裂分的双重峰。

2.4 ^{13}C NMR 谱

化合物 **2a~2c** 的 ^{13}C NMR 在 $\delta 168\sim 165$ 显示吸收峰, 可归属于酰胺键 O=C-N-H 碳原子, 在 $\delta 128\sim 133$ 的峰归属于苯环上的碳, 而吡啶环上的碳其化学环境相差较大, 靠近 N 端的碳在 $\delta 149.5\sim 151.5$ 有吸收峰, 与羰基相连的碳在 $\delta 121\sim 123$ 有吸收峰。此三个化合物它们的苯环和吡啶环的碳化学环境相差很小, 其吸收峰的化学位移几乎没有改变。

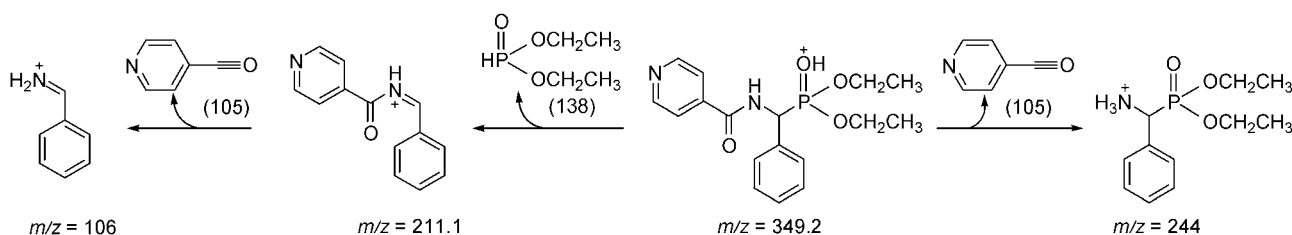
2.5 主要 MS 数据分析

表 1 中的数据 displays: 这些化合物都有分子离子峰 ($\text{M}+\text{H}^+$) 和分子自身二聚峰 ($2\text{M}+\text{H}^+$), 化合物 **2a~2c** 的二级质谱都有 $m/z=211$, $m/z=106$ 的碎片峰, 以 **2b** 化合物为例, 裂解方式可能如 Scheme 3 进行。

表 1 化合物 **1a~1c** 和 **2a~2c** 的主要质谱数据

Table 1 The main mass spectral data of compounds **1a~1c** and **2a~2c**

Compound	m/z (%)		
1a	106.1 (10.64)	215.9 ($\text{M}+\text{H}^+$, 21.60)	430.7 ($2\text{M}+\text{H}^+$, 100)
1b	106.1 (44.21)	243.9 ($\text{M}+\text{H}^+$, 95.44)	486.7 ($2\text{M}+\text{H}^+$, 100)
1c	106.1 (17.16)	271.9 ($\text{M}+\text{H}^+$, 66.53)	544.5 ($2\text{M}+\text{H}^+$, 100)
2a	210.9 (19.48)	321.0 ($\text{M}+\text{H}^+$, 100)	641.0 ($2\text{M}+\text{H}^+$, 1.01)
2b	211.1 (17.77)	348.9 ($\text{M}+\text{H}^+$, 100)	696.7 ($2\text{M}+\text{H}^+$, 10.16)
2c	211.0 (40.38)	377.0 ($\text{M}+\text{H}^+$, 100)	752.8 ($2\text{M}+\text{H}^+$, 22.63)



Scheme 3

2.6 生物活性分析

2.6.1 抗菌活性

抗菌活性用滤纸片法^[14]测定溶解于甲醇的化合物对指示菌的拮抗性, 化合物 **1a**, **1b**, **1c**, **2a**, **2b** 对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)有抑菌活性(抑菌圈 $d=7$ mm), 化合物(**1c**)对枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)有强的抑菌活性(抑菌圈 $d=12$ mm).

2.6.2 抗肿瘤活性

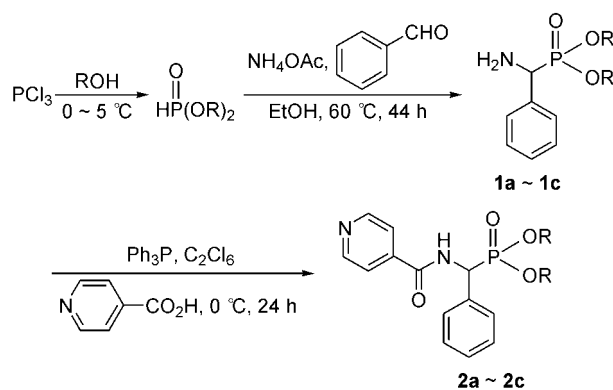
抗肿瘤活性采用细胞毒 MTT 法测定^[15,16]: 测得 **2a~2c** 化合物都具有一定的抗 KB(人口腔上皮癌细胞)癌细胞的生物活性, 它们的 IC_{50} 值分别为 114.1, 68.5, 51.8 $\mu\text{g/mL}$, 其活性随着 R 取代基团的增大而增强, 为寻找具有更高活性的含磷化合物指明了方向.

References

- 1 Paolo, F.; Salvatore, F. *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.* **1996**, *110*, 189.
- 2 Baylis, E. K.; Campbell, C. D.; Dingwall, J. G. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1984**, 2845.
- 3 Kowalik, J.; Sawka, D. W.; Gowiak, T. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1984**, 446.
- 4 Livingstone, S. E.; Mihkelson, A. E. *Inorg. Chem.* **1970**, *9* (11), 2545.
- 5 Chen, R.-Y.; Liu, L.-Z. *Study on Organic Phosphorus Chemistry*, Higher Education Press, Beijing, **2001**, p. 3 (in Chinese).
(陈茹玉, 刘纶祖, *有机磷化学研究*, 高等教育出版社, 北京, **2001**. p. 3.)
- 6 Appel, R.; Halstenbery, J. *Chem. Ber.* **1977**, *110*, 2374.
- 7 Appel, R.; Heinfried, S. *Chem. Ber.* **1977**, *110*, 2382.
- 8 Appel, R.; Roland, M. *Chem. Ber.* **1977**, *110*, 2385.
- 9 Takahashi, H.; Yoshioka, M.; Imai, N.; Onimura, K. *Synthesis* **1994**, 763.
- 10 Yuan, C.-Y.; Wang, G.-H.; Chen, S.-J. *Synthesis* **1990**, 522.
- 11 Yuan, C.-Y.; Xi, Y.-M. *Acta Chim. Sinica* **1986**, *44*(3), 280 (in Chinese).
(袁承业, 漆又毛, *化学学报*, **1986**, *44*(3), 280.)
- 12 Chen, R.-Y.; Qing, D. *Chin. Chem. Lett.* **1995**, *6*(3), 181.
- 13 House, H. O.; Trost, B. M. *J. Org. Chem.* **1964**, *29*, 1339.
- 14 Li, G.-L. *Microbiology* **2001**, *28*(6), 64 (in Chinese).
- 15 Zhang, Y.-J.; Wang, J.-F.; Huang, Y.-J.; Zheng, Z.-H.; Su, W.-J. *J. Xiamen Univ. (Nat. Sci. Ed.)* **2002**, *41*(6), 804 (in Chinese).
(张永杰, 王建锋, 黄耀坚, 郑忠辉, 苏文金, *厦门大学学报(自然科学版)*, **2002**, *41*(6), 804.)
- 16 Mosmann, F. *J. Immunol. Methods* **1983**, *65*, 55.

(Y0406073 ZHAO, X. J.; ZHENG, G. C.)

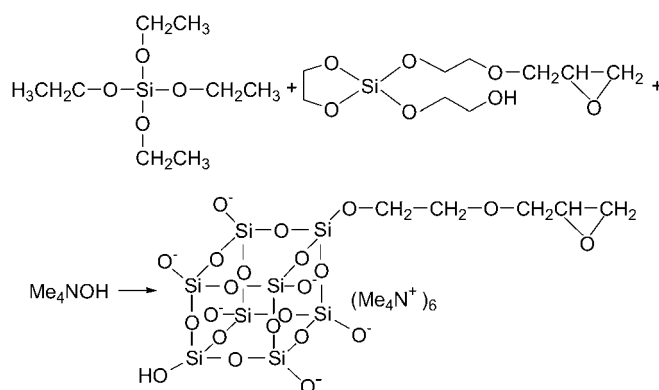
Synthesis and Spectral Characterization of {Phenyl-[(pyridine-4-carbonyl)amino]-methyl}phosphonic Acid Dialkyl Ester



FANG, Hua; FANG, Mei-Juan; LIU, Xiao-Xia; XU, Peng-Xiang; ZHAO, Yu-Fen*
Chin. J. Org. Chem. **2005**, 25(4), 466

Compounds **1a ~ 1c** and **2a ~ 2c** were synthesized via Mannich reaction and peptide coupling reaction. Their structures were confirmed by elemental analysis, IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR and MS spectra, and the antibacterial and antitumor activities of these compounds were given.

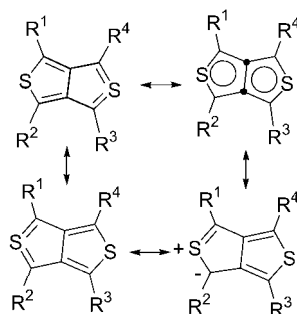
Study on the Synthesis of Silsesquioxane



WEN, Yong-Xiang; LIU, An-Hua*
Chin. J. Org. Chem. **2005**, 25(4), 470

Epoxide silicate substances were derived by creatively using the reaction of functional halogen-containing compounds with reactive pentacoordinate silicon complexes. By controlling the hydrolysis of the epoxide silicate substance and tetraethyl orthosilicate, a novel type of epoxy-functionalized silsesquioxane was prepared. And the synthesized product was characterized and analyzed by X-ray diffractometry, fourier transform infrared spectroscopy and differential scanning calorimetry.

Nonclassical Condensed Thiophene: Progress in the Study of Thieno[3,4-*c*]-thiophene



Thieno[3,4-*c*]thiophenes have non-classical structures, the 10π -electron system with sulfur in the formal +4 oxidation state is of interest from both the synthetic and theoretical viewpoints. It has been the object of chemical investigations for almost four decades.

GENG, Rong-Xia
Chin. J. Org. Chem. **2005**, 25(4), 475