

学校编码: 10384

分类号\_\_\_\_\_密级\_\_

学号: 200225044

UDC \_\_\_\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

氨基酸五配位磷化合物的合成、反应机理及其性质研究

Synthesis, Formation Mechanism and Properties of  
Pentacoordinated Spirophosphoranes derived from  
amino acids

喻 琳

指导教师姓名: 赵玉芬 教授

专业名称: 有机化学

论文提交日期:

论文答辩时间:

学位授予日期:

答辩委员会主席: \_\_\_\_\_

评 阅 人: \_\_\_\_\_

厦门大学博硕士学位论文摘要库

*Synthesis, Formation Mechanism and  
Properties of Pentacoordinated  
Spirophosphoranes derived from amino acids*

*Dissertation Submitted to Xiamen University in partial fulfillment of  
the requirement for the degree of Master of Nature Science*

*By*

*Lin Yu*

*(Organic Chemistry, Chemical Biology)*

*Dissertation Supervisor: Professor Yu-Fen Zhao*

*At Department of Chemistry, Xiamen University*

*August, 2005*

厦门大学博硕士学位论文摘要库

## 厦门大学学位论文原创性声明

兹提交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文而产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学博硕士学位论文摘要库

# 目 录

第一章 引言.....	1
1.1 磷烷的合成方法.....	2
1.1.1 从二配位磷化合物起始.....	2
1.1.2 从三配位磷化合物起始.....	2
1.1.3 从四配位磷化合物起始.....	7
1.1.4 从五配位磷化合物起始.....	8
1.2 五配位磷化合物的结构.....	10
1.2.1 五配位磷化合物的空间结构.....	10
1.2.2 氨基酸五配位磷化合物的立体异构.....	12
1.3 氢磷烷.....	12
1.4 五配位磷烷的生化意义.....	15
1.5 氨基酸五配位氢磷烷对酪氨酸酶的抑制作用.....	17
1.5.1 酪氨酸酶的生化意义.....	17
1.5.2 酪氨酸酶抑制剂及其应用.....	18
第二章 氨基酸五配位氢磷烷合成及结构表征.....	26
2.1 研究背景.....	26
2.1.1 双氨基酸五配位氢磷烷的合成方法.....	27
2.1.2 吕海燕等合成氨基酸五配位氢磷烷的方法.....	28
2.2 实验部分.....	29
2.2.1 试剂.....	29
2.2.2 原料 2-氯-1, 3, 2-二氧磷杂环戊烷的合成.....	30
2.2.3 仪器.....	30
2.2.4 单分子氨基酸五配位氢磷烷的合成.....	30
2.2.5 双氨基酸五配位氢磷烷的合成.....	31
2.2.6 双氨基酸五配位氢磷烷的波谱表征.....	32
2.2.7 双丙氨酸五配位氢磷烷的单晶结构.....	34
2.2.8 氨基酸五配位氢磷烷合成的磷谱跟踪.....	38
2.2.8.1 单分子丙氨酸五配位氢磷烷合成的磷谱跟踪.....	38
2.2.8.2 双丙氨酸五配位氢磷烷合成的磷谱跟踪.....	38
2.2.8.3 $\beta$ -丙氨酸与三氯化磷反应的磷谱跟踪.....	38
2.2.9 氨基酸五配位氢磷烷的反应.....	39

2.2.9.1	氨基酸五配位氢磷烷的中性水解反应	39
2.2.9.2	氨基酸五配位氢磷烷的碱性水解反应	39
2.2.9.3	氨基酸五配位氢磷烷的酸性水解反应	39
2.2.9.4	双氨基酸五配位氢磷烷的类 Atherton-Todd 反应	39
<b>2.3</b>	<b>结果与讨论</b>	<b>40</b>
2.3.1	单分子氨基酸五配位氢磷烷的合成	40
2.3.1.1	单分子氨基酸五配位氢磷烷合成方法的改进	40
2.3.1.2	单分子氨基酸五配位氢磷烷合成的磷谱跟踪	41
2.3.2	双氨基酸五配位氢磷烷的合成	42
2.3.3	双氨基酸五配位氢磷烷合成的反应机理研究	43
2.3.4	$\beta$ -丙氨酸与三氯化磷反应的磷谱跟踪	44
2.3.5	双丙氨酸五配位氢磷烷的分子结构	45
2.3.6	双氨基酸五配位氢磷烷构型的确定	50
2.3.7	氨基酸五配位氢磷烷的反应	52
2.3.7.1	氨基酸五配位氢磷烷的水解反应	52
2.3.7.2	两种氨基酸五配位氢磷烷性质差异的探讨	53
2.3.7.3	双氨基酸五配位氢磷烷与 $\text{CCl}_4$ 的类 Atherton-Todd 反应	54
<b>第三章</b>	<b>氨基酸五配位氢磷烷的生化性质研究</b>	<b>58</b>
<b>3.1</b>	<b>实验部分</b>	<b>59</b>
3.1.1	试剂及耗材	59
3.1.2	生化活性检测方法	60
3.1.2.1	抗肿瘤活性测定	60
3.1.2.2	抗菌活性测定	61
3.1.2.3	对酪氨酸酶抑制活性的测定	61
3.1.2.4	氨基酸五配位氢磷烷对酪氨酸酶内源荧光发射光谱影响的测定	62
3.1.2.5	氨基酸五配位氢磷烷对底物影响的测定	62
3.1.3	分子模拟研究氨基酸五配位氢磷烷与酪氨酸酶的作用	63
<b>3.2</b>	<b>结果与讨论</b>	<b>64</b>
3.2.1	不同氨基酸氢磷烷对酶活力的影响	64
3.2.2	氨基酸五配位氢磷烷对酪氨酸酶抑制机理研究	68
3.2.3	双异亮氨酸五配位氢磷烷对酪氨酸酶内源荧光发射光谱的影响	76
3.2.4	双异亮氨酸五配位氢磷烷对底物的影响	77
3.2.5	分子模拟研究氨基酸五配位氢磷烷与酪氨酸酶的作用	78

3.2.6 氨基酸五配位氢磷烷的抗菌抗肿瘤的生物学活性 .....	84
结 论 .....	87
附 录 .....	89
致 谢 .....	99

厦门大学博硕士学位论文摘要库

厦门大学博硕士学位论文摘要库

## 摘 要

氨基酸五配位磷化合物在有机磷化学和生物化学中具有重要的作用。氨基酸被磷酰后，可以在水/醇体系中发生一系列仿生化反应，如成肽反应、成酯反应、酯交换反应和磷上的  $N \rightarrow O$  迁移等，这些生物有机反应均经历氨基酸磷烷中间体。氨基酸成肽反应是生命起源中一个重要的反应。这样  $N$ -磷酰化氨基酸的成肽反应就成了“蛋白与核酸共起源”模型的重要组成部分。因此，合成稳定的氨基酸磷烷，并研究其性质以及成肽反应，不仅对于揭示蛋白质的生物合成和生命起源具有重要理论意义，而且对多肽合成也具有实用价值。

本论文运用了核磁共振、电喷雾质谱、X 射线衍射、分子模拟等分析手段，对一系列五配位氨基酸氢磷烷的合成，物理和化学性质，以及对酪氨酸酶的抑制活性和机理进行了探讨，主要成果如下：

以氨基酸为原料合成了一系列单分子和双分子氨基酸氢磷烷。产物用  $^{31}\text{P}$ 、 $^1\text{H}$  以及质谱进行了表征。合成路线具有条件温和、快速、易于操作和产率较高等特点。利用磷谱对氨基酸氢磷烷的合成过程进行了跟踪研究，初步探讨了反应机理。同时还发现只有  $\alpha$ -氨基酸才能形成氨基酸氢磷烷， $\beta$ -氨基酸则不能。

通过实验证明，较双氨基酸氢磷烷而言，单分子氨基酸氢磷烷化学性质较为活泼，易水解；而双氨基酸氢磷烷反应活性与一些以往的五配位磷化合物不同，较为稳定，反应活性较弱，不易发生水解，甚至在酸、碱条件下也不易水解。

磷谱表明，氨基酸氢磷烷通常是以一对非对映异构体在溶液中存在的。通过重结晶的方法得到双丙氨酸氢磷烷的单晶，并对其进行了 X-射线单晶结构测定。结果表明，磷与五个配位原子形成稍稍扭曲

的三角双锥（TBP）的空间结构。磷原子和两个氨基酸片段组成的两个五元环并不在同一个平面内，氨基酸片段的羧基氧原子和氮原子分别位于 a 键和 e 键。这一结果为蛋白质的生物合成和前生物合成中存在于氨基酸五配位磷烷中间体提供了有力的证明。

本文还用分光光度法测定了氨基酸五配位氢磷烷对一种广泛存在于微生物、动植物和人体，在生成一系列引起褐化的色素物过程中的关键酶——酪氨酸酶的抑制活性。结果表明氨基酸氢磷烷对酪氨酸酶有不同程度的抑制作用。同时，对它们的抑制活性进行了比较，对抑制类型进行了分类。并运用分子模拟对氨基酸五配位氢磷烷与酪氨酸酶类似物活性位点的作用进行了研究，辅以荧光和核磁检测手段从而推测了氨基酸氢磷烷对酪氨酸酶的抑制作用机制。

关键词：氨基酸，五配位磷，氢磷烷

## Abstract

Pentacoordinated spirophosphoranes derived from amino acids are very important in organic phosphorus chemistry and biological chemistry. *N*-phospho- $\alpha$ -amino acids are obtained by phosphorylation of amino acids, and they can take place many kinds of bioorganic reactions in water/alcohol media. For example, peptide formation, the ester formation, the ester exchange on phosphorus and  $\text{N} \rightarrow \text{O}$  phosphoryl migration reactions are observed. The synthesis of peptide is one of the most crucial reactions in origin of life. And then the peptide formation from *N*-phospho- $\alpha$ -amino acids plays a significant role in the model of the coevolution of protein and nucleotides. Hence, it is very important to study the synthesis and reactivity of the pentacoordinated spirophosphoranes containing amino acid moiety. To obtain the unambiguous structure characterization is not only important for comprehending the biosynthesis of proteins but also for the study origin of life.

In this thesis, the synthesis, physic and chemical characters, the bioactivity and the reaction mechanism were studied with assistance of NMR, ESI-MS, X-ray diffraction and theoretical chemistry technology.

The results are illustrated as following:

Two types of amino acid spirophosphoranes were synthesized. The products were characterized by using many kinds of technology. The method is very simple and convenient with reasonable yield. To study the mechanism, the reaction was traced by  $^{31}\text{P}$  NMR spectroscopy. It was found that only  $\alpha$ -amino acids could be converted into spirophosphoranes

while  $\beta$ -amino acids could not. The  $\alpha$ -amino acids were specified on the backbone of the five member ring.

Studies on the reactivities of these pentacoordinated spirophosphoranes have showed that mono amino acid ones had more reactivity than the other ones. The compounds containing two amino acids residues were stable in the water indeed and had no reactivity toward nucleophilic reaction.

The compound 3,8-Dimethyl-1, 6-dioxo-4, 9-diaza-5  $\lambda^5$ -phospho-spiro [4.4] nonane-2, 7-dione, was cultured for the first time as a colorless chunk crystal. X-ray structural analysis revealed that the phosphorus atom configuration in the compound was distorted trigonal bipyramid (TBP) with the two oxygen atoms in apical position and two nitrogen atoms in equatorial position.

The spirophosphoranes were tested for their inhibitory activity to tyrosinase, an important enzyme in the formation of melanin widely distributed in microorganisms, animals and plants. It showed that this kind of compounds have the mushroom tyrosinase inhibition activity, especially the compound containing Ile residue. These compounds have good potential in application. The possible mechanism of inhibition was presumed according to theoretical chemistry and NMR technology.

Key words: amino acid, pentacoordinated phosphorane, hydridophosphorane

## 第一章 引言

磷在生命的起源和生命活动过程中有着不可或缺的地位，对其化学问题的深入研究必然有助于揭示以上两方面的化学机制。磷原子以  $sp^3d$  杂化轨道与五个基团相连，形成五个  $\sigma$  键，这类化合物称作磷烷 (Phosphoranes)，又称作五配位磷化合物 (Pentacoordinated Phosphorus Compounds)。五配位磷化合物是 60 年代发展起来的一类新型有机磷化合物，以其丰富的化学内涵开拓了生物有机磷化学新的研究领域，并随之带动包括六配位在内的高配位有机磷化学的发展。论述磷烷化学就不能不提到 Westheimer F 和 Ramirez F 等人的贡献。1966 年 Westheimer<sup>[1]</sup> 在研究五元环磷酸酯水解时，提出经过五配位过渡态反应机理。这种假设圆满地解释了五元环磷酸酯环内水解和部分环外水解的实验结果，也被其他科学家采纳，成功地解释了非环磷酸酯和磷酸酯水解过程。Westheimer 的工作奠定了磷烷在有机磷化学领域中的地位。Ramirez<sup>[2]</sup> 建立了一套环状烷氧磷烷形成规则、环状磷化合物的结构，并指出了其合成环状磷化合物的方法。

五配位磷化合物在生物化学中起着重要作用。磷所参与的绝大多数生命化学过程，包括酶活性调节过程中蛋白的磷酸化与去磷酸化，信息传导过程中蛋白的磷酸化与去磷酸化，ATP 的能量转移，RNA 的自体切割等，其化学本质都是磷酸基转移反应。生物化学家们的研究表明<sup>[3]</sup>，这些磷酸基转移反应都是通过五配位磷中间体来完成的。因此，对生物化学中五配位磷化合物的研究具有重要意义。

## 1.1 磷烷的合成方法

文献报道的磷烷合成方法种类繁多，绝大多数是以三配位磷和五配位磷作为起始原料得到磷烷。

### 1.1.1 从二配位磷化合物起始

刘纶祖等采用以下反应，首次以二配位磷与乙二醇或乙醇胺反应合成了磷烷 **1**，此化合物不太稳定，难以进行提纯<sup>[4]</sup>。

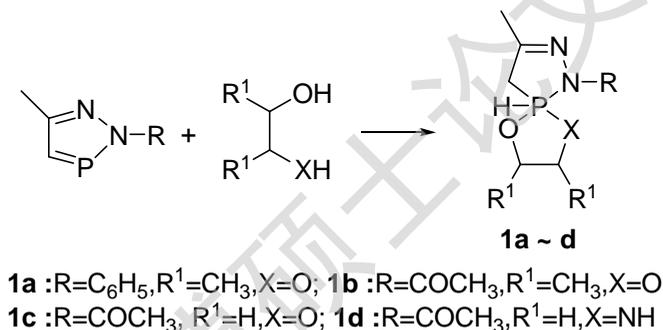


图 1-1 由二配位磷合成磷烷

### 1.1.2 从三配位磷化合物起始

#### 1.1.2.1 卤素或卤化物与三配位磷反应

许多五配位磷化合物可以由卤素或卤化物与三配位磷化合物直接加成得到。这类反应中最简单的，可以说是磷在氯气中燃烧，同时生成三氯化磷和五氯化磷这一反应，五氯化磷正是三氯化磷与氯气加成的产物。表 1-1 列举了几个典型反应。三配位磷化合物与卤素的加成反应，存在着磷盐与磷烷的平衡，两物质的平衡浓度比随溶剂极性的不同而有所不同。其中化合物 **2** 是第一个含 P-I 键的磷烷<sup>[6]</sup>。S. M. Godfrey 以二乙醚为溶剂，得到了纯的三苯基二氯化磷<sup>[9]</sup>。

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士学位论文摘要库