

N-苯基-N'-单氯代苯基脲的合成 及生物活性研究*

耿会玲, 周 乐, 周文明, 赵海双

(西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 在三乙胺或三正丁胺存在下, 一氯苯胺与氯甲酸甲酯加热回流生成一氯苯胺基甲酸甲酯对氯代苯基, 后者不经分离再与过量苯胺反应生成 N-苯基-N'-邻氯代苯基脲、N-苯基-N'-间氯代苯基脲和 N-苯基-N'-对氯代苯基脲 3 种化合物, 其中以 N-苯基-N'-间氯代苯基脲的产率最高。采用红外光谱和质谱对目标化合物进行了结构表征。以丰光萝卜种子为材料, 采用萝卜子叶扩张生长法测定了 3 种化合物促进细胞分裂的活性, 结果表明, 合成的 3 种化合物质量浓度为 1.00~0.01 mg/L 时, 都能显著促进萝卜子叶生长, 其中以 1.00 mg/L 的 N-苯基-N'-间氯代苯基脲的活性最高。

[关键词] 二苯基脲; N-苯基-N'-单氯代苯基脲; 生物活性

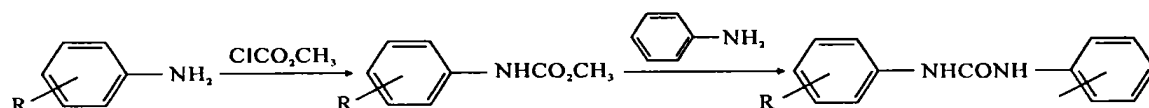
[中图分类号] O 625.63⁺ 2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2004)04-0079-04

苯基脲类衍生物 (Phenyl urea derivatives, PUD) 是一类具有广泛生物活性的细胞分裂素, 生产上主要用于农作物的杀虫、杀菌、除草和调节生长, 其中调节植物细胞生长是其最典型的活性特征。该类物质经典的合成方法有光气法^[1]、草酰氯法^[2]、取代脲法^[3~5]、叠氮钠法^[6]等, 其中光气法和草酰氯法被经常使用。作者曾尝试过这两种方法, 发现其第一步的反应产物苯基异氰酸酯相当活泼, 在室温下尤其是在空气中很容易聚合, 影响了下一步反应; 此

外, 光气毒性较大, 必须加强安全与环保工作, 这给生产带来困难, 因此希望能找到一种简单易行的合成方法。据文献^[7]报道, 有人用氯甲酸甲酯代替光气和草酰氯合成了苄黄隆, 受此启发, 作者采用下面的路线成功合成了 N-苯基-N'-邻氯代苯基脲(I), N-苯基-N'-间氯代苯基脲(II)和 N-苯基-N'-对氯代苯基脲(III) 3 种 N-苯基-N'-单氯代苯基脲。现将其合成方法及其生物活性的测定结果报道如下。



(R=—Cl, 其可位于苯胺的邻、间、对位)

1 材料与方法

1.1 材料和仪器

丰光萝卜种子。

所用试剂除对氯苯胺为化学纯外, 其余均为分析纯。

所用仪器主要有 DF-101S 型集热式恒温加热磁力搅拌器 (巩义市英峪予华仪器厂), KQ 3200 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司), SHB-B95 型循环水式多用真空泵 (郑州长城科工贸有限公司), RE-52 型旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂), 254 nm 紫外分析仪 (上海科艺光学仪器厂), EB-280 型电子读数天平 (上海物理光学仪器厂), WRS-1A 型数字熔点仪 (上海物理光学仪器厂), BRUKER-55 型红外光谱仪 (KBr 压片), MS-EJ 质谱仪; 薄层层析硅胶 (G 和 GF₂₅₄) (青岛海洋化工厂)。

1.2 方 法

1.2.1 化合物的合成 向冰水冷却的 50 mL 圆底烧瓶中加入 2.55 g (0.02 mol) 氯代苯胺和 3.04 g

* [收稿日期] 2003-03-19

[基金项目] 陕西省自然科学基金项目 (99SM 02)

[作者简介] 耿会玲 (1977-), 女, 陕西澄城人, 见习助教, 在读博士, 主要从事有机化学合成研究。

(0.03 mol) 三乙胺, 边搅拌边逐滴加入 2.84 g (0.03 mol) 氯甲酸甲酯, 反应放热并伴有大量气体生成。10 min 后有白色粘稠固体物质产生, 待不再有气体放出时, 加入 0.18 g (0.01 mol) 蒸馏水, 室温搅拌 30 min 使其充分反应。装上恒压漏斗、冷凝管和干燥管, 加热至 75℃ 左右并保温, 回流 30 min 后反应完全。再向反应瓶中加入 2.79 g (0.03 mol) 苯胺, 加热至 150~170℃ 使其回流, 反应液逐渐由淡黄色变为红棕色。在反应 3~5 h 后冷却至室温, 加入 30 mL 无水乙醇, 边搅拌边缓慢倒入 180 mL 蒸馏水中, 有絮状沉淀生成。在 4℃ 静置过夜, 次日抽滤, 沉淀用水洗涤。无水乙醇重结晶 2 次, 100℃ 干燥 2 h, 分别得到 3.97 g (I), 4.07 g (II) 和 3.89 g (III) 晶体, 产率分别为 80.5%, 82.5% 和 78.8%。

1.2.2 化合物生物活性的测定 参照文献[8]的方法, 将萝卜种子撒播在垫有湿润滤纸的培养皿中, 于 26℃ 黑暗条件下发芽, 大约 48 h 后, 从幼苗上取下子叶, 彻底去除下胚轴, 选取大小一致的子叶作为试验材料; 把待测物用 2 mmol/L 的磷酸缓冲液配置成 1.00, 0.10 和 0.01 mg/L 的溶液, 再把准确量取的 3 mL 待测液加到垫有滤纸的直径为 9 cm 的培

养皿中, 然后在每个培养皿中放上事先称量过的 8 对子叶; 培养皿放在垫有湿润滤纸的盘子内, 再把盘子放到合适大小的塑料袋内以维持其中的高湿度, 整个培养物在 25℃ 且连续光照的条件下培养 3 d, 然后测定子叶鲜重, 以磷酸缓冲液培养的子叶为对照, 最后计算每个处理子叶的平均鲜重, 每个试验重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 化合物合成的最佳反应条件

一氯苯胺和氯甲酸甲酯在三乙胺中反应之后, 再与苯胺进行第二步反应合成 N-苯基-N'-单氯代苯基脲类物质, 也可将两步反应连续进行, 即采用“一锅法”合成产物。该方法设备简单, 反应步骤少, 后处理简便, 产物纯度高, 收率高, 适于实验室和工业生产使用。第一步反应较快, 回流 30 min, 反应完全。第二步反应则较慢, 是决定整个反应速度和产率的关键步骤。因此, 为了确定其最佳反应条件, 在第二步反应中设计了 3 因素 3 水平的正交试验, 以反应温度、反应时间和苯胺的物质的量为主要因素, 对化合物 I, II 和 III 进行了正交试验, 结果见表 1。

表 1 化合物的正交试验结果分析

Table 1 Analyzing result of orthogonal experiments of compounds

化合物 Compound	试验号 Test number	反应温度/ Temperature	反应时间/h Time	苯胺的物质的量/mol Molar quantity	产率/% Yield
I	1	160	4.0	0.03	74.3
	2	160	4.5	0.03	76.6
	3	160	5.0	0.03	75.9
	4	170	4.0	0.03	78.7
	5	170	4.5	0.03	80.5
	6	170	5.0	0.03	79.6
	7	175	4.0	0.03	77.2
	8	175	4.5	0.03	79.5
	9	175	5.0	0.03	79.0
II	1	153	3.5	0.03	80.1
	2	153	4.0	0.03	81.2
	3	153	4.5	0.03	80.8
	4	158	3.5	0.03	82.0
	5	158	4.0	0.03	82.5
	6	158	4.5	0.03	81.8
	7	163	3.5	0.03	81.0
	8	163	4.0	0.03	81.9
	9	163	4.5	0.03	81.0
III	1	160	4.5	0.03	75.0
	2	160	5.0	0.03	76.1
	3	160	5.5	0.03	75.8
	4	165	4.5	0.03	77.9
	5	165	5.0	0.03	78.8
	6	165	5.5	0.03	78.0
	7	170	4.5	0.03	77.0
	8	170	5.0	0.03	78.0
	9	170	5.5	0.03	77.4

由正交试验可得出其最佳反应条件(表 2)。因为氯代苯胺比较昂贵, 试验中氯代苯胺的量定为

0.02 mol, 过量使用其他试剂来摸索反应的物料比, 结果发现, 其他试剂均过量 50% 时产率较高。所以,

合成产物的适宜工艺条件为, 氯代苯胺、氯甲酸甲酯、三乙胺和苯胺的物质的量之比为 1 0 1 5 1 5。第一步反应的回流时间为 30 min, 第二步反应的回流时间分别为 4 5, 4 和 5 h, 收率分别为 80 5%, 82 5% 和 78 8%。

表 2 3 种化合物的最佳反应条件

Table 1 The best reactional conditions of 3 compounds				
产物 Products	反应温度/ Temperature	反应时间/h Time	苯胺的物质的量/mol Molar quantity	产率/% Yield
I	170	4 5	0 03	80 5
II	158	4	0 03	82 5
III	165	5	0 03	78 8

由表 2 可知, 生成 N-苯基-N⁴间氯代苯基脲比较容易且产率较高, 而生成 N-苯基-N⁴邻氯代苯基脲和 N-苯基-N⁴对氯代苯基脲则较难且产率较低。这是由于氯原子处于间位时, 其与羰基碳原子间不存在共轭效应, 羰基碳原子带部分正电荷便于苯胺进攻; 但当氯原子处于对位或邻位时, 氯原子与羰基碳原子间存在共轭效应, 导致羰基碳原子电子云密度升高, 不利于苯胺的进攻。由此可见, 带有吸电子基团的二苯基脲能促进萝卜子叶的扩张, 其对植物细胞分裂的影响也有类似机理。

2 2 化合物的谱学特征

N-苯基-N⁴邻氯代苯基脲 (I): C₁₃H₁₁N₂OCl, 乳白色针状晶体化合物(EtOH), mp 235 2~ 236 0。IR (KBr, cm⁻¹): 3 325, (氮氢键, 中强), 3 198 (苯环上的碳碳双键, 弱), 1 649 (酰胺的羰基, 强), 1 595 (苯环, 强), 1 554 (氮氢键, 中强), 1 497 (苯环, 强), 1 446 (苯环, 中强), 1 314, 1 081 (碳氮键), 1 233 (酰胺 II 带), 913, 854, 753, 697, 668 (苯环上的取代)。EIMS m/z: 246 [M], 212 [M - Cl], 194 [M - Cl - H₂O], 133, 127, 119 [M - Cl - H₂O - C₆H₄], 107, 93 (基峰), 92, 91, 78, 77 [C₆H₅], 76, 66, 65, 64, 62。

N-苯基-N⁴间氯代苯基脲 (II): C₁₃H₁₁N₂OCl, 白色针状晶体(EtOH), mp 250 4~ 251 1。IR (KBr, cm⁻¹): 3 298 (酰胺的氮氢键, 中强), 2 918 (苯

环上的碳碳双键, 弱), 1 634 (酰胺的羰基, 强), 1 593 (苯环, 强), 1 558 (氮氢键, 中强), 1 497 (苯环, 强), 1 444 (苯环, 中强), 1 298, 1 088 (碳氮键), 1 236 (酰胺 II 带), 896, 842, 825, 786, 753, 738, 693, 638 (苯环取代)。EIMS m/z: 246 [M], 212 [M - Cl], 194 [M - Cl - H₂O], 155, 153, 152, 129, 127, 119 [M - Cl - H₂O - C₆H₃], 93 (基峰), 77 [C₆H₅], 75, 73, 66, 65, 64, 62, 60。

N-苯基-N⁴对氯代苯基脲 (III): C₁₃H₁₁N₂OCl, 淡黄色细针状晶体(EtOH), mp 219 5~ 220 2。IR (KBr, cm⁻¹): 3 291 (酰胺的氮氢键, 中强), 3 135 (苯环上的碳碳双键, 弱), 1 651 (酰胺的羰基, 强), 1 594 (苯环, 强), 1 557 (氮氢键, 中强), 1 497 (苯环, 强), 1 447 (苯环, 中强), 1 314, 1 051 (碳氮键, 中强), 1 233 (酰胺 II 带), 913, 894, 873, 779, 753, 691, 641 (苯环上的取代)。EIMS m/z: 246 [M], 228 [M - H₂O], 212 [M - Cl], 194 [M - Cl - H₂O], 155, 153 [M - H₂O - C₆H₃], 152, 129, 127 (基峰), 119 [M - Cl - H₂O - C₆H₄], 111, 93, 78, 77 [C₆H₅], 75, 66, 65, 64, 63, 62。

2 3 化合物的生物活性

以丰光萝卜种子为材料, 采用萝卜子叶扩张生长法, 测定了 3 种化合物促进细胞分裂的活性, 结果见表 3。

表 3 3 种化合物促进萝卜子叶生长的活性测定

Table 3 The biological activity of promoting radish cotyledon growth					
化合物 Test compounds	质量浓度/ (mg · L ⁻¹) Concentration	萝卜子叶鲜重的增加量/g The additional weight of radish cotyledon			
		重复 1 Repeat 1	重复 2 Repeat 2	重复 3 Repeat 3	平均增重率/% Average rate
I	1 00	0 14	0 16	0 15	107 10
	0 10	0 13	0 13	0 10	85 70
	0 01	0 10	0 11	0 09	71 40
II	1 00	0 24	0 20	0 19	150 00
	0 10	0 18	0 17	0 14	116 40
	0 01	0 13	0 10	0 11	78 60
III	1 00	0 16	0 17	0 17	119 30
	0 10	0 12	0 15	0 13	95 00
	0 01	0 11	0 11	0 10	75 70
空白对照 Contrast		0 04	0 06	0 04	24 30

由表 3 可知, 与空白对照相比, 合成的 3 种化合物的质量浓度为 1 00~ 1 00 mg/L 时, 能显著促进

萝卜子叶的扩张, 子叶的增重率与细胞分裂素质量浓度成正相关, 即质量浓度大者活性较高。3 种化合物促进萝卜子叶扩张的活性按 N-苯基-N⁴-间氯代苯基脲、N-苯基-N⁴-对氯代苯基脲、N-苯基-N⁴-邻氯代苯基脲依次递减, 其中 1.00 mg/L 的 N-苯基-N⁴-

间氯代苯基脲活性最高, 其促进萝卜子叶扩张的活性约为空白对照的 8 倍。据此可以推测, 苯环上带有亲电基团的二苯基脲可能会较好地促进萝卜子叶的扩张, 同一取代基的活性可能按间位、对位、邻位依次递减。

[参考文献]

- [1] 王立坤, 李正明. 具有生物活性的脲类化合物的合成研究[J]. 化学通报, 1992, (1): 32- 37.
- [2] Okamoto T, Isogai Y, Shudo K, et al. N-(2-chloro-4-pyridyl) ureas useful in plant growth regulating composition[P]. DE (Germany) 2843722. 1979-04-19.
- [3] 王振荣, 李步清. 农药商品大全[M]. 北京: 中国商业出版社, 1996. 299- 301.
- [4] 石坤元, 程世友, 雷维素, 等. N-丙烯酰基-N⁴-苯基脲及其衍生物的合成与聚合反应[J]. 高分子学报, 1994, 22(6): 709- 716.
- [5] 李 榆, 张黔忠, 江银瑞, 等. 氰酸盐法合成脲类除草剂杀草隆[J]. 农药, 1998, 37(4): 22- 23.
- [6] Henrie R N. Preparation of pyridyl urea compounds and agriculture uses as plant growth regulator[P]. WO (World Intellectual Property Organization) 8702665. 1987-05-07.
- [7] 孔繁蕾. 除草剂苄黄隆及其中间体的合成方法[J]. 农药译丛, 1990, 24(4): 40- 44.
- [8] 马庆虎. 植物激素的生物试法 I. 细胞分裂素[J]. 植物杂志, 1987, (2): 40- 41.

Study on the synthesis and biological activity of N-phenyl-N⁴-(chlorophenyl) ureas

GENG Hui-ling, ZHOU Le, ZHOU Wen-ming, ZHAO Hai-shuang

(College of Life Sciences, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Three kinds of N-phenyl-N⁴-chlorophenyl urea were synthesized through the reaction which made chloro-aniline and methyl chloroformate first reacted in triethylamine solvent, then continued to react with aniline. They were N-phenyl-N⁴-(2-chlorophenyl) urea, N-phenyl-N⁴-(3-chlorophenyl) urea and N-phenyl-N⁴-(4-chlorophenyl) urea, the compound of the highest yield was N-phenyl-N⁴-(3-chlorophenyl) urea. The three compounds were characterized by IR and MS spectrometry. Their biological activity of promoting Radish Fengguang cell split was tested by the method of radish cotyledon stretching growth. The result showed that the above compounds all promoted radish cotyledon growth effectively when their concentrations were between 0.01 mg/L and 1.00 mg/L. Furthermore, the N-phenyl-N⁴-(3-chlorophenyl) urea whose concentration was 1.00 mg/L had the highest biological activity.

Key words: diphenylurea; N-phenyl-N⁴-(chlorophenyl) urea; biological activity