

N-苯基-N'-甲基苯基脲的合成及其生物活性研究

耿会玲^{1a,1b}, 吴文君^{1b}, 潘 乐^a, 白红进², 周 乐^{1a}

(1 西北农林科技大学 a 理学院, b 农药研究所, 陕西 杨陵 712100; 2 塔里木大学 生命科学学院, 新疆 阿拉尔 843300)

[摘 要] **【目的】**建立 N-苯基 N'-甲基苯基脲类化合物的合成方法, 并分析其生物活性。**【方法】**在三乙胺存在的条件下, 苯胺与氯甲酸甲酯反应生成苯胺基甲酸甲酯, 后者不经分离再与过量甲基苯胺反应即可生成 N-苯基-N'-甲基苯基脲; 采用红外光谱和质谱对目标化合物的结构进行表征, 并以丰光萝卜种子为材料, 采用萝卜子叶扩张生长法测定其对进细胞分裂的促进活性。**【结果】**第一步反应回流 30 min 即可; 通过正交试验优化得到第二步反应的条件为: 140 °C 回流 3.0 h 得 N-苯基-N'-(4-甲基苯基)脲, 产率为 87.4%; 152 °C 回流 4.5 h 得 N-苯基-N'-(2-甲基苯基)脲, 产率为 81.5%; 155 °C 回流 5.5 h 得 N-苯基-N'-(3-甲基苯基)脲, 产率为 80.4%。3 种化合物的质量浓度为 0.01~1.00 mg/L 时, 均对萝卜子叶的生长有明显的促进作用, 其中以 1.00 mg/L N-苯基-N'-(3-甲基苯基)脲的活性最高。**【结论】**氯甲酸甲酯法具有操作方便安全、产率高、后处理简单和“一锅煮”等优点, 适于实验室和工业生产使用。3 个甲基取代的二苯基脲类化合物均可较好地促进萝卜子叶的扩张, 其活性按间位、对位和邻位依次递减。

[关键词] 二苯基脲; N-苯基-N'-甲基苯基脲; 有机合成; 生物活性

[中国分类号] O625.63⁺2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2009)04-0203-05

Study on the Synthesis and Biological Activity of N-Phenyl-N'-Methylphenylureas

GENG Hui-ling^{1a,1b}, WU Wen-jun^{1b}, PAN Le^a, BAI Hong-jin², ZHOU Le^{1a}

(1a. College of Science, 1b. Institute of Pesticide, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2. College of Life Science, Tarim University, Alar, Xinjiang 843300, China.)

Abstract: **【Objective】**The study was to establish the synthesis method of N-phenyl-N'-methylphenylureas and to analyze their biological activity. **【Method】**Three kinds of N-phenyl-N'-methylphenylureas were successfully prepared by methyl chloroformate method, the synthetic procedure went as follows: first, aniline reacted with methyl chloroformate in the presence of triethylamine, then the resulted mixture continued to react with methylaniline to provide N-phenyl-N'-methylphenylureas. Their structures were elucidated by IR and MS spectrometry. Their biological activity of promoting Radish Fengguang cell split was tested by the method of radish cotyledon stretching growth. **【Result】**The first step just enabled the reagents reflux for 30 min. Their best reaction conditions of the second step were confirmed by the orthogonal experiment. The yield of N-phenyl-N'-(4-methylphenyl)urea was 87.4% when the reagents were refluxed for 3.0 h at 140 °C, the yield of N-phenyl-N'-(2-methylphenyl) 81.5% when the reagents refluxed for 4.5 h at 152 °C, the yield of N-phenyl-N'-(3-methylphenyl) 80.4% when the reagents refluxed for 5.5 h at 155 °C. The compounds above all promoted radish cotyledon growing effectively when the concentration ranged from 0.01—1.00 mg/L. Furthermore, the third one had the highest biological activity at the concentration

* [收稿日期] 2008-06-12

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (30571402; 30771454)

[作者简介] 耿会玲(1977—), 女, 陕西澄城人, 讲师, 在读博士, 主要从事有机合成研究。E-mail: genghuijing5@163.com

[通信作者] 周 乐(1965—), 男, 陕西蒲城人, 教授, 博士生导师, 主要从事有机合成和天然产物化学研究。

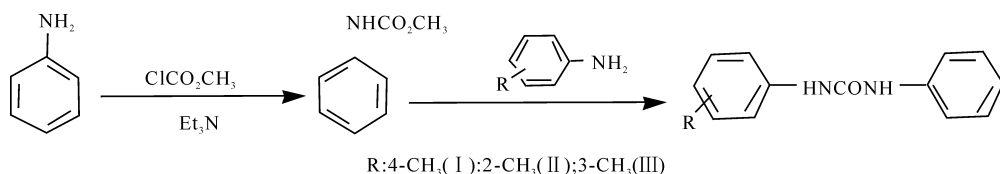
E-mail: zhoulechem@yahoo.com.cn

of 1.00 mg/L. 【Conclusion】 This method can be applied in laboratory and industry for its following advantages; simple devices, short procedure, easy and simple work-up, purer product, high yield. Three diphenylureas all could promote radish cotyledon growing and the biological activities of their derivatives decreased gradually according to the order of *meta*, *para* and *ortho*-position.

Key words: diphenylurea; N-phenyl-N'-methylphenylurea; organic synthesis; biological activity

二芳基脲是一类重要的有机合成中间体,可用于合成治疗糖尿病和镇痛的药物^[1]、汽油中的抗氧化剂及除草剂、杀虫剂等^[2],其中二苯基脲是一类具有广泛生物活性和低毒性的新型细胞分裂素,生产上主要用于农作物的杀虫、杀菌、除草和调节生长,而调节植物细胞生长是其最典型的活性特征。目前,国内外合成该类物质的方法有光气法^[3-4]、草酰

氯法^[5]、取代脲法^[6-9]、CO₂ 合成法^[10] 和叠氮钠法^[11-12] 等,但这些方法均不同程度地存在产量低、毒性大或操作繁琐等不足。本文报道一种制备二苯基脲类化合物的新方法——氯甲酸甲酯法,其合成路线如下。



1 材料与方法

1.1 材料与仪器

丰光萝卜种子,由陕西省农业科学院种子公司提供。

所用试剂均为分析纯,其中苯胺、三乙胺、氯甲酸甲酯和甲基苯胺购自青岛试剂厂。

所用的主要仪器有: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;KQ3200 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;Bio-Rad FTS-135 型红外光谱仪(KBr 压片),德国 Bio 公司;VG Auto Spec-3000 型质谱仪,英国 VG 公司;薄层层析硅胶 GF254,青岛海洋化工厂。

1.2 化合物的合成

向 50 mL 圆底烧瓶中依次加入 1.86 g (0.02 mol) 苯胺和 3.04 g (0.03 mol) 三乙胺,在冰水冷却和搅拌下逐滴加入 2.84 g (0.03 mol) 氯甲酸甲酯,反应放热并生成大量气体。10 min 后有白色粘稠物产生,待没有气体放出时加入 0.18 g (0.01 mol) 蒸馏水水解过量的氯甲酸甲酯。室温搅拌 30 min

后再加热至 75 °C 回流 30 min。然后,向反应瓶中加入 3.22 g (0.03 mol) 甲基苯胺,加热至 150~170 °C 回流 3~5 h。冷却至室温后,加入 30 mL 乙醇,在搅拌下缓慢倒入 180 mL 蒸馏水中,生成絮状沉淀。4 °C 静置过夜,次日抽滤,所得沉淀用水洗涤 3 次。乙醇重结晶 2 次,100 °C 干燥 2 h,分别得到 3.95 g (I), 3.68 g (II), 3.63 g (III) 晶体,产率分别为 87.4%, 81.5% 和 80.4%。

1.3 化合物最佳反应条件的筛选

根据预试验的结果,选择反应温度和反应时间为试验因素,采用 2 因素 3 水平正交试验对 3 种化合物第二步反应的条件进行研究,其中苯胺、氯甲酸甲酯、三乙胺和甲基苯胺物质的量之比固定为 1.0 : 1.5 : 1.5 : 1.5。

1.4 化合物生物活性的测定

将萝卜种子撒播在垫有湿润滤纸的培养皿里,于 26 °C 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^[12]。将供试化合物用 2 mmol/L 磷酸缓冲液配置成 1.00, 0.10 和 0.01 mg/L 的溶液,再准确量取 3 mL 待测液加到垫有滤纸的培养皿 (9 cm) 中,然后把事先称量过的 8 对子叶放入培养皿中。将培养皿放在垫有湿润滤纸的盘子内,再将盘子放到合适大小的塑料袋内以维持其内的高湿度,整个培养物在 25 °C 连续光照条件下培养 3 d,然后称量

子叶的鲜质量,以磷酸缓冲液培养的子叶作对照(CK),最后计算每处理子叶的平均鲜质量,每试验重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 3 种 N-苯基-N'-甲基苯基脲化合物最佳反应条件的确定

本研究所采用的合成方法属于“一锅煮”法,其中涉及两个反应过程。由于第一步生成甲酰胺酯的反应快速且完全,而第二步反应较慢,因此本研究主

要考察第二步的反应条件,其结果见表 1。

由表 1 可见,3 种化合物第二步反应的最佳温度分别为 140(Ⅰ),152(Ⅱ)和 155 ℃(Ⅲ),最佳反应时间分别为 3.0,4.5 和 5.5 h,在此条件下的收率分别为 87.4%,81.5%和 80.4%。

对于 3 种不同的产物而言,尽管在设定的温度和时间范围内,温度和时间都对产率有一定的影响,但总体差异不大。因此,从经济的角度考虑,表 1 中每个化合物试验号 1 所对应的反应条件可作为制备该化合物的适宜条件。

表 1 3 种 N-苯基-N'-甲基苯基脲化合物最佳反应条件的正交试验结果

Table 1 Orthogonal experiment results of the preparation of the three kinds of N-phenyl-N'-methylphenylureas

化合物 Compound	试验号 No.	反应温度/℃ Temperature	反应时间/h Time	产率/% Yield
Ⅰ	1	130	2.5	82.0
	2	130	3.0	82.2
	3	130	3.5	82.4
	4	140	2.5	86.1
	5	140	3.0	87.4
	6	140	3.5	86.5
	7	150	2.5	83.9
	8	150	3.0	84.0
	9	150	3.5	84.3
Ⅱ	1	148	4.0	79.7
	2	148	4.5	79.8
	3	148	5.0	80.2
	4	152	4.0	81.0
	5	152	4.5	81.5
	6	152	5.0	81.2
	7	157	4.0	80.3
	8	157	4.5	80.6
	9	157	5.0	81.0
Ⅲ	1	150	5.0	78.5
	2	150	5.5	78.8
	3	150	6.0	79.5
	4	155	5.0	79.8
	5	155	5.5	80.4
	6	155	6.0	80.2
	7	160	5.0	79.0
	8	160	5.5	79.5
	9	160	6.0	79.6

2.2 3 种 N-苯基-N'-甲基苯基脲化合物的谱学特征

N-苯基-N'-(4-甲基苯基)脲(Ⅰ):C₁₄H₁₄N₂O,白色针状晶体(EtOH),mp 260~261 ℃。IR(KBr,cm⁻¹):3 420,3 304(N—H,m),3 032(Ar—H,w),2 917(CH₃,w),2 862(CH₃,w),2 363,2 336,1 894(Ar—H,w),1 719,1 702(Ar—H,w),1 640(C=O,s),1 615,1 596,1 564,1 516(苯环呼吸振动,s),1 442,1 406,1 310,1 292(C—N,s-m),1 239(酰胺Ⅱ带),1 109(C—N,w),905,815,783,752

(δAr—H,m),668,642,506。EI-MS *m/z*:226[M]⁺,222,208[M—CH₂],134,133[M—CH₂—C₆H₃],132,119,108,107[对甲苯胺](基峰),106,104,95[苯胺+2],93[苯胺],80,79[C₆H₆+1],77[C₆H₅],66[C₅H₅+1],65[C₅H₅],64[C₅H₄],63[C₅H₄+1]。

N-苯基-N'-(2-甲基苯基)脲(Ⅱ):C₁₄H₁₄N₂O,白色细针状晶体(EtOH),mp 215.4~216.3 ℃。IR(KBr,cm⁻¹):3 418,3 317(N—H,m),3 138,3 061(Ar—H,w),1 647(C=O,s),1 595,1 497

(m), 1 446(m) (苯环呼吸振动), 1 553(N—H, s), 1 344, 1 297(C—N, m-s), 1 238(酰胺Ⅱ带), 1 119(C—N, w), 1 050 (酰胺Ⅲ带, w), 912 (m), 894(m), 752(s), 695(m-s), 668, 641(m) (Ar—H, m), 506。EI-MS m/z : 226[M]⁺, 212[M—CH₂], 208, 195, 194[M—CH₂—H₂O], 133[M—CH₂—C₆H₃], 119, 108, 107[对甲基苯胺], 106[甲基苯胺-1], 104, 93[苯胺] (基峰), 91[苯胺-2], 79[C₆H₆+1], 78[C₆H₆], 77[C₆H₅], 66[C₅H₅+1], 65[C₅H₅], 64[C₅H₄], 62[C₅H₄—2]。

N-苯基-N'-(3-甲基苯基)脲(Ⅲ): C₁₄H₁₄N₂O, 白色针状晶体(EtOH), mp 202. 2~202. 7℃。IR (KBr, cm⁻¹): 3 301(N—H, s), 2 917, 2 851(CH₃, m), 1 941(Ar—H, w), 1 635(C=O, s), 1 611(s), 1 489(m-s), 1 445(m) (苯环呼吸振动), 1 557(N—

H, s), 1 376, 1 295(C—N, m-s), 1 230(酰胺Ⅱ带), 1 169, 1 089(C—N, w), 906 (w), 879(w), 783(m), 764, 750(s), 733 (s), 696 (s), 664 (m), 556。EI-MS m/z : 226[M], 222, 212[M—CH₂], 208[M—H₂O], 134, 133[M—CH₂—C₆H₃], 132, 119, 108, 107[甲基苯胺] (基峰), 106[甲基苯胺-1], 104, 94[苯胺+1], 93[苯胺], 91[苯胺-2], 79[C₆H₆+1], 78[C₆H₆], 77[C₆H₅], 66[C₅H₅+1], 65[C₅H₅], 64[C₅H₄], 63[C₅H₄—1], 62[C₅H₄—2]。

2.3 3 种 N-苯基-N'-甲基苯基脲化合物的生物活性

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 种化合物对细胞分裂的促进作用, 所得结果如表 2 所示。

表 2 3 种 N-苯基-N'-甲基苯基脲化合物对萝卜子叶生长的促进作用

Table 3 Promotion effect of the three kinds of N-phenyl-N'-methylphenylureas on the growth of radish cotyledon		萝卜子叶鲜质量的增加量/g The additional weight of radish cotyledon			
化合物 Compound	质量浓度/(mg·L ⁻¹) Concentration	重复 1 Repeat 1	重复 2 Repeat 2	重复 3 Repeat 3	鲜质量平均增加率/% Average Rate
I	0.01	0.12	0.10	0.08	71.430
	0.10	0.14	0.12	0.15	97.620
	1.00	0.20	0.18	0.16	128.57
II	0.01	0.08	0.05	0.05	42.860
	0.10	0.12	0.10	0.12	80.905
	1.00	0.19	0.17	0.18	128.57
III	0.01	0.12	0.10	0.12	80.950
	0.10	0.17	0.15	0.16	114.29
	1.00	0.22	0.20	0.20	152.38
CK	—	0.04	0.06	0.04	24.30

由表 2 可知, 与对照相比, 3 种化合物的质量浓度为 0.01~1.00 mg/L 时, 均能明显促进萝卜子叶的扩张, 子叶鲜质量的增加率与 3 种细胞分裂素的质量浓度呈正相关, 即质量浓度越大活性越高。3 种化合物对萝卜子叶扩张的促进活性按化合物Ⅲ、化合物Ⅰ和化合物Ⅱ依次递减, 其中 1.00 mg/L 的化合物Ⅲ对萝卜子叶扩张的促进活性最高, 其萝卜子叶鲜质量的增加率较对照高 6 倍多。

3 讨论

二苯基脲类化合物的合成方法很多, 其中只有光气法和草酰氯法最为常用。但这两种方法第一步反应的产物都是苯基异氰酸酯, 该物质在室温下很容易聚合, 从而给下一步反应带来很大困难; 此外, 光气法合成时的毒性较大, 对安全与环保措施要求较高。与上述两种方法相比, 本研究所建立的氯甲酸甲酯法, 具有操作方便安全、产率高、后处理简单

和“一锅煮”的优点。另外, 作者曾采用该方法合成了其他 7 种二苯基脲类化合物, 证明该方法具有一定的普遍性。

对于合成 3 种产物的第二步反应来说, 3 种取代苯胺的反应活性均表现为 4-甲基苯胺>2-甲基苯胺>3-甲基苯胺。这种反应活性上的差异可解释为: 甲基属于邻对位定位基, 可使苯环邻位和对位碳原子上的电子密度升高, 进而使邻位和对位碳上所连接的氨基氮原子的电子密度相应升高, 从而提高了其亲核反应性能。相对而言, 甲基使苯环间位碳原子上的电子密度增加较少, 其上连接的氨基氮原子的电子密度也增加较少, 故其亲核性较弱, 反应速率较低。由于 2-甲基苯胺的亲核反应还存在一定的空阻效应, 故 2-甲基苯胺的反应活性较 3-甲基苯胺强, 却比 4-甲基苯胺弱。

关于二芳基脲类化合物促进细胞分裂活性的报道已有很多, 但有关其构效关系的研究却鲜有报道。

本研究结果表明,带有弱供电子基团如甲基的二苯基脲类化合物,可较好地促进萝卜子叶细胞的分裂,但甲基位于苯环不同位置时其活性亦有所不同,其中间以甲基取代物的活性最高。

4 结 论

通过氯甲酸甲酯依次与两种不同苯胺在不同条件下发生反应,采用“一锅煮”的操作程序,方便而高效地制备了 N-苯基-N'-(4-甲基苯基)脲、N-苯基-N'-(2-甲基苯基)脲和 N-苯基-N'-(3-甲基苯基)脲。3 种化合物的质量浓度为 0.01~1.00 mg/L 时,其对细胞分裂均有明显的促进作用,其中以 N-苯基-N'-(3-甲基苯基)脲的活性最高。该研究结果为更深入地研究二苯基脲类化合物的结构与活性关系奠定了一定的理论基础。

[参考文献]

- [1] Bigi F, Maggi R, Sartori G, et al. Reaction of aromatic amines and ethyl acetoacetate promoted by zeolite HSZ-360 phosgene-free synthesis of symmetric diphenylurea [J]. Chem Commun, 1998(4):513-514.
- [2] Jbeaver D J, Roman D P, Stoffel P J. The preparation and bacteriostatic activity of substituted ureas [J]. J Am Chem Soc, 1957,79(5):1236-1245.
- [3] 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.
Wang L K, Li Z M. Study on synthesis of bioactive urea derivatives [J]. Chemistry, 1992(1):32-37. (in Chinese)
- [4] Wladyslaw W, Ryszard S, Andrzej J, et al. 4,4'-Dinitrophenylurea [P]. Poland:123410,1984-11-15.

- [5] Okamoto T, Isogai Y, Shudo K, et al. N-(2-chloro-4-pyridyl) ureas useful in plant growth regulating composition [P]. Germany:2843722,1979-04-19.
- [6] 周美华,张小林,刘 敏,等. N,N'-二硝基苯基脲的合成研究 [J]. 化学试剂,2005,46(6):349-351.
Zhou M H, Zhang X L, Liu M, et al. Study on the synthesis of N,N'-bis(4-nitrophenyl)urea [J]. Chemical Reagents, 2005, 46(6):349-351. (in Chinese)
- [7] 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.
Wang Z R, Li B Q. The Encyclopedia of Pesticide Commodity [M]. Beijing:Chinese Commerce Publishing House,1996:299-301. (in Chinese)
- [8] 丘坤元,程世友,雷维素,等. N-丙烯酰基-N'-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.
Qiu K Y, Cheng S Y, Lei W S, et al. Synthesis and polymerization of N-acryloyl-N'-phenyl urea and its derivatives [J]. Acta Polymerica Sinica, 1994, 22(6):709-716. (in Chinese)
- [9] 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.
Li Y, Zhang Q Z, Jiang Y R, et al. Synthesis of one of urea's herbicides-daimuron by cyanate [J]. Pesticide, 1988, 37(4):22-23. (in Chinese)
- [10] Bucklar S A. Reaction of phosphine with isocyanates [J]. J Org Chem, 1959, 24(7):1460-1462.
- [11] Henrie R N. Preparation of pyridyl urea compounds and agriculture uses as plant growth regulator [P]. World Intellectual Property Organization:8702665,1987-05-07.
- [12] 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.
Kong F L. Synthetic methods of bensulfuron-methyl and its intermediates [J]. Nongyao Yicong, 1990, 24(4):40-44. (in Chinese)