

N-苯基-N'-硝基苯基脲的合成及其 促细胞分裂活性研究

耿会玲^{1a,1b}, 李福华^{1a}, 张航行², 吴文君^{1b}, 周 乐^{1a}

(1 西北农林科技大学 a. 理学院, b. 农药研究所, 陕西 杨凌 712100; 2 咸阳市渭城区第一初中, 陕西 咸阳 712000)

【摘 要】 【目的】建立 3 种 N-苯基-N'-硝基苯基脲类化合物的氯甲酸甲酯合成法, 并对其生物活性进行测定。【方法】在三正丁胺存在下, 硝基苯胺与氯甲酸甲酯加热回流生成硝基苯胺基甲酸甲酯, 后者再与过量苯胺反应生成 N-苯基-N'-硝基苯基脲, 通过优化试验对 3 种脲类化合物的第 2 步反应条件进行优化, 采用红外光谱和质谱对目标化合物进行结构鉴定。以丰光萝卜种子为材料, 采用萝卜子叶扩张生长法测定 3 种化合物的促细胞分裂活性。【结果】建立的氯甲酸甲酯合成法分 2 步进行, 第 1 步反应很快, 回流 30 min 即可完成。3 种化合物第 2 步反应的最佳条件: N-苯基-N'-(2-硝基苯基)脲, 170 ℃ 反应 4.5 h, 产率 85.5%; N-苯基-N'-(3-硝基苯基)脲, 152 ℃ 反应 4.0 h, 产率 95.0%; N-苯基-N'-(4-硝基苯基)脲, 165 ℃ 反应 5.0 h, 产率 89.1%。3 种化合物在 0.01~1.00 mg/L 均能明显促进萝卜子叶生长, 其中 N-苯基-N'-(3-硝基苯基)脲的活性最高。【结论】氯甲酸甲酯法具有设备简单、反应步骤少、后处理简便、产物纯度和收率高等优点, 适用于实验室和工业生产。带有吸电子基团的二苯基脲可较好地促进萝卜子叶扩张, 同一取代基的活性按间位、对位、邻位依次递减。

【关键词】 二苯基脲; N-苯基-N'-硝基苯基脲; 氯甲酸甲酯; 生物活性

【中图分类号】 O625.63⁺2

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2009)10-0188-05

Study on the synthesis and its promoting cell division actioty of N-phenyl-N'-nitrophenylurea

GENG Hui-ling^{1a,1b}, LI Fu-hua^{1a}, ZHANG Hang-xing², WU Wen-jun^{1b}, ZHOU Le^{1a}

(1 a College of Science, b Institute of Pesticide, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 No. 1 Middle School of Weicheng District, Xianyang, Shaanxi 712000, China)

Abstract: 【Objective】 Three kinds of N-phenyl-N'-nitrophenylureas were successfully synthesized by methyl chloroformate method and their promoting cell division activity was measured. 【Method】 Nitroaniline firstly reacted with methyl chloroformate in the presence of tri-n-butylamine, and then the resulting mixture continued to react with aniline to yield N-phenyl-N'-nitrophenylureas. The best reaction condition of the second step was optimized through the optimization test. The structures of the target compounds were elucidated by IR and MS analysis. The promoting Radish Fengguang cell division activity was tested by the method of radish cotyledon stretching growth. 【Result】 The first step reaction was finished under reflux for 30 min. The mixture of the first step was refluxed for 4.5 h at 170 ℃ and obtained N-phenyl-N'-(2-nitrophenyl)urea with the yield of 85.5%, refluxed for 4.0 h at 152 ℃ and got N-phenyl-N'-(3-nitrophenyl)urea with the yield of 95.0%, and refluxed for 5.0 h at 165 ℃ and got N-phenyl-N'-(4-nitrophenyl) urea with the yield of 89.1%. The compounds above all effectively promoted radish cotyledon growing

* [收稿日期] 2009-01-06

[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: zhoulchem@yahoo.com.cn

when their concentrations ranged from 0.01 mg/L to 1.00 mg/L, of which N-phenyl-N'-(3-nitrophenyl)urea showed the highest bioactivity. 【Conclusion】 This method can be applied in laboratory and industry with the following advantages: simple device, short procedure, easy and simple work-up, pure product and high yield. Diphenylureas with electron-withdrawing groups could promote radish cotyledon growing and the biological activities of their derivatives of the same group decreased gradually according to the order of meta-position, para-position and ortho-position.

Key words: diphenylurea; N-phenyl-N'-nitrophenylurea; methyl chloroformate; biological activity

自人们发现并分离出具有促进植物细胞分裂活性的脲类细胞激动素(如二苯基脲)后^[1-2],人工合成具有的生物活性的脲类化合物在国内外相继出现,掀起了研制和应用脲类化合物的高潮。其中,二苯基脲类衍生物是一类具有广泛生物活性的细胞分裂素,在农业生产上主要用于杀虫、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^[3-4]、草酰氯法^[5]、取代脲法^[6-9]、CO₂ 合成法^[10]、叠氮钠法^[11]等,其中光气法和草酰氯法最常用。笔者曾尝试过这 2 种方法,发现其第 1 步反应产物苯基异氰酸酯相当活泼,于室温条件下,在空气中很容易聚合,给下一步反应带来困难。此外,光气毒性较大,必须做好安全与环保措施,这给生产带来较大困难。因此,笔者希望能找到一种简单易行的脲类化合物合成方法。有学者用氯甲酸甲酯代替光气和草酰氯合成了苕黄隆^[12]。受此启发,本研究采用氯甲酸甲酯法合成了 N-苯基-N'-(2-硝基苯基)脲(化合物 I)、N-苯基-N'-(3-硝基苯基)脲(化合物 II)和 N-苯基-N'-(4-硝基苯基)脲(化合物 III) 3 种 N-苯基-N'-硝基苯基脲,并对其生物活性进行了测定,现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

- 1.1.1 萝卜种子 丰光萝卜种子,由陕西省农业科学院种子公司提供。
- 1.1.2 试剂 试剂均为分析纯,其中苯胺、三正丁胺、氯甲酸甲酯、硝基苯胺均购自青岛试剂厂。

1.1.3 仪器 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生产;KQ3200 型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司生产;SHB-B95 型循环水式多用真空泵,郑州长城科工贸有限公司生产;RE-52 型旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂生产;254 nm 紫外分析仪,上海科艺光学仪器厂生产;EB-280 型电子读数天平,上海物理光学仪器厂生产;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 公司生产;VG Auto Spec-3000 型质谱仪,英国 VG 公司生产;薄层层析硅胶(G 和 GF254),青岛海洋化工厂生产。

1.2 脲类化合物的合成方法与反应条件的优化

1.2.1 化合物的合成 合成路线见图 1。第 1 步:向冰水冷却的 50 mL 圆底烧瓶中加入 2.46 g(0.02 mol)硝基苯胺和 5.55 g(0.03 mol)三正丁胺,搅拌下逐滴加入 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。给反应瓶装上恒压漏斗、冷凝管和干燥管,加热至 75 ℃左右,回流 30 min 后反应完全。第 2 步:再向反应瓶中加入 2.79 g(0.03 mol)硝基苯胺,加热至 150~170 ℃使其回流,反应液逐渐由淡黄色变为红棕色。反应 3~5 h 后冷却到室温,加入 30 mL 无水乙醇,在搅拌下缓慢倒入 180 mL 蒸馏水中,生成絮状沉淀。在 4 ℃静置过夜,次日抽滤,沉淀水洗 3 次。无水乙醇重结晶 2 次,100 ℃干燥 2 h,分别得到化合物 I 4.39 g、化合物 II 4.88 g、化合物 III 4.58 g。

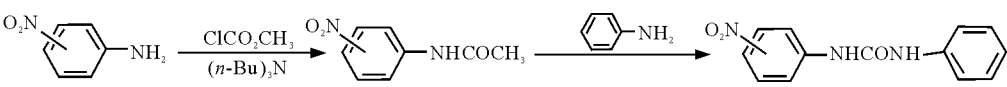


图 1 N-苯基-N'-硝基苯基脲的合成路线
Fig. 1 Synthetic route of N-phenyl-N'-nitrophenylureas
1.2.2 化合物的结构鉴定 3 种目标化合物的结构鉴定采用红外光谱分析和质谱分析完成。

1.2.3 化合物反应条件的优化 在 1.2.1 中第 1 步反应条件和第 2 步反应所加苯胺量(0.03 mol)均不变的情况下,改变第 2 步反应的温度和反应时间,考察不同反应温度(化合物 I:160,170,180 ℃;化合物 II:147,152,157 ℃;化合物 III:160,165,170 ℃)和反应时间(化合物 I:4.0,4.5,5.0 h;化合物 II:3.5,4.0,4.5;化合物 III:4.0,5.0,5.5 h)对每个目标化合物反应产率的影响,以产率最高的反应条件为最佳反应条件。

1.3 脲类化合物促细胞分裂活性的测定

将萝卜种子撒播在垫有湿润滤纸的培养皿里,于 26 ℃ 黑暗条件下发芽,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^[13]。将待测物用 2 mmol/L 磷酸缓冲液配制成质量浓度为 1.00,0.10 和 0.01 mg/L 的溶液,准确量取 3 mL 待测液,加入垫有滤纸的直径为 9 cm 的培养皿中,然后在每个培养皿中放置事先称量过的 8 对子叶;将培养皿置于垫有湿润滤纸的盘子内,将盘子放到大小合适的塑料袋内以维持其内较高的湿度,整个培养物在 25 ℃ 且连续光照的条件下培养 3 d,然后测定子叶的鲜质量,以磷酸缓冲液培养的子叶作对照(CK),计算各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 目标化合物的结构鉴定

N-苯基-N'-(2-硝基苯基)脲(I): $C_{13}H_{11}N_3O_3$,黄色针状晶体(EtOH),m. p. 170.2~170.9 ℃。IR(KBr, cm^{-1}): 3 428(N-H, m-s), 3 275(N-H, m-s), 3 021(Ar-H, w), 1 623(C=O, s), 1 595(苯环呼吸振动, s), 1 558(N-H, s), 1 532(-NO₂, s), 1 496(苯环呼吸振动, s), 1 443(苯环呼吸振动, s), 1 357(-NO₂, s), 1 230(酰胺 II 带, 中), 1 060(酰胺 III 带, w), 795(Ar-H, m), 752(Ar-H, m), 691(Ar-H, m-s), 670, 638(Ar-H, w)。EI-MS m/z : 258 [M+1], 257 [M], 227 [M-NO], 211 [M-NO₂], 208, 194, 193, 165, 163, 138 [硝基苯胺], 134 [M-NO₂-C₆H₅], 123, 119, 108, 94[苯胺+1], 93[苯胺](基峰), 91[苯胺-2], 77[C₆H₅], 76[C₆H₅-1], 66[C₅H₅+1], 65[C₅H₅], 62[C₅H₄-2]。

N-苯基-N'-(3-硝基苯基)脲(II): $C_{13}H_{11}N_3O_3$,淡黄色细针状晶体(EtOH),m. p. 192.1~192.8 ℃。IR(KBr, cm^{-1}): 3 420(N-H, m-s), 3 311(N-H, m-s), 3 087(Ar-H, w), 1 641(C=O, s), 1 596

(苯环呼吸振动, s), 1 559(N-H, s), 1 537(-NO₂, s), 1 498(苯环呼吸振动, s), 1 445(苯环呼吸振动, s), 1 359(-NO₂, s), 1 236(酰胺 II 带, 中), 1 089(C-N, w), 1 062(酰胺 III 带, w), 892(C-N, w), 788, 745, 694(Ar-H, m)。EI-MS m/z : 258 [M+1], 257 [M], 256 [M-1], 227 [M-NO], 212 [M-NO₂+1], 209, 195, 193, 165, 138 [硝基苯胺], 134 [M-NO₂-C₆H₅], 122, 118, 108, 94[苯胺+1], 93[苯胺](基峰), 92[苯胺-1], 91[苯胺-2], 78[C₆H₆], 66[C₅H₅+1], 65[C₅H₅], 64[C₅H₄], 63[C₅H₄-1]。

N-苯基-N'-(4-硝基苯基)脲(III): $C_{13}H_{11}N_3O_3$,白色针状晶体(EtOH),m. p. 217.8~218.7 ℃。IR(KBr, cm^{-1}): 3 485(N-H, m-s), 3 356(N-H, m), 3 128(Ar-H, w), 1 655(C=O, s), 1 599(苯环呼吸振动, s), 1 565(N-H, s), 1 539(-NO₂, s), 1 499, 1 448(苯环呼吸振动, s), 1 361(-NO₂, s), 1 239(酰胺 II 带, 中), 896(C-N, w), 823, 741(Ar-H, m), 699(Ar-H, m-s), 628(Ar-H, w)。EI-MS m/z : 258 [M+1], 257 [M], 256 [M-1], 227 [M-NO], 211 [M-NO₂], 208, 195, 193 [M-NO₂-H₂O], 164 [M-H₂O-C₆H₃], 163, 139, 138 [硝基苯胺], 134 [M-NO₂-C₆H₅], 120, 119, 108, 94[苯胺+1], 93[苯胺](基峰), 92[苯胺-1], 91[苯胺-2], 79[C₆H₆+1], 77[C₆H₅], 65[C₅H₅], 64[C₅H₄], 62[C₅H₄-2]。

2.2 第 2 步反应条件的优化

由表 1 可见,化合物 I、II、III 第 2 步反应的最佳反应条件分别为 170 ℃ 反应 4.5 h, 152 ℃ 反应 4.0 h, 165 ℃ 反应 5.0 h;各化合物在最佳反应条件下的产率分别为 85.5%, 95.0% 和 89.1%。

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,温度和时间均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。

2.3 3 种 N-苯基-N'-硝基苯基脲化合物的促细胞分裂活性

以丰光萝卜种子为材料,采用萝卜子叶扩张生长法测定 3 种脲类化合物促进细胞分裂的活性,结果见表 2。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大小为化合物 II>化合物 III>化合物 I,其中 1.00 mg/L 的化合

物Ⅱ对萝卜子叶扩张的促进活性最高,较对照的高 出 8 倍多。

表 1 3 种脲类化合物第 2 步反应条件优化试验结果

目标化合物 Target compound	试验号 Test number	因素/Factor		产率/% Yield
		反应温度/℃ Temperature	反应时间/h Time	
化合物 I Compound I	1/2/3	160	4.0/4.5/5.0	77.8/79.9/78.5
	4/5/6	170	4.0/4.5/5.0	82.7/85.5/82.9
	7/8/9	180	4.0/4.5/5.0	80.2/81.5/80.0
化合物 Ⅱ Compound Ⅱ	1/2/3	147	3.5/4.0/4.5	92.1/92.7/92.5
	4/5/6	152	3.5/4.0/4.5	94.3/95.0/94.6
	7/8/9	157	3.5/4.0/4.5	93.3/93.8/93.5
化合物 Ⅲ Compound Ⅲ	1/2/3	160	4.5/5.0/5.5	83.0/85.1/83.8
	4/5/6	165	4.5/5.0/5.5	87.8/89.1/88.0
	7/8/9	170	4.5/5.0/5.5	86.1/87.0/85.4

表 2 3 种 N-苯基-N'-硝基苯基脲化合物促进萝卜子叶生长的活性

Table 2 Bioactivities of three kinds of N-phenyl-N'-nitrophenylureas' promoting radish cotyledon growth					
化合物 Compound	质量浓度/ (mg · L ⁻¹) Concentration	萝卜子叶鲜质量的增加量/g Additional weight of radish cotyledon			平均增质量率/% Average rate
		重复 1 Repeat 1	重复 2 Repeat 2	重复 3 Repeat 3	
I	1.00	0.16	0.18	0.17	114.43
	0.10	0.12	0.13	0.14	92.86
	0.01	0.11	0.10	0.10	73.80
Ⅱ	1.00	0.31	0.33	0.34	233.33
	0.10	0.27	0.26	0.29	195.24
	0.01	0.23	0.22	0.20	154.76
Ⅲ	1.00	0.23	0.25	0.23	169.05
	0.10	0.18	0.17	0.19	128.57
	0.01	0.14	0.15	0.15	104.76
CK	—	0.04	0.06	0.04	24.30

3 讨 论

二苯基脲类化合物的合成方法报道很多,而只有光气法和草酰氯法最为常用,但这 2 种方法均存在一定的不足之处。与上述 2 种方法相比,本研究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,作者曾采用该法合成了其他 7 种二苯基脲类化合物,证明该法具有一定的普遍性。

对于 3 种产物的第 2 步反应来说,3 种取代苯胺的反应活性表现为 3-硝基苯胺>4-硝基苯胺>2-硝基苯胺。这种反应活性上的差异可解释为:硝基属于间位定位基,其吸电子效应可使苯环间位碳原子上的电子密度高于邻位和对位碳原子上的电子密度,进而使邻位和对位碳上所连氨基氮原子的电子密度也相应较低,从而降低了其亲核反应性能,所以 3-硝基苯胺的反应活性最高。由于 2-硝基苯胺的亲核反应还存在一定的空间位阻效应,故 2-硝基苯胺的反应活性比 4-硝基苯胺弱。

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则鲜有报道。本研究结果表明,带有吸电子基团如硝基的二苯基脲类化合物可较好地促进萝卜子叶细胞分裂,但硝基位于苯环不同位置对其活性的影响也不同,其中间硝基取代物的活性最高。

4 结 论

通过氯甲酸甲酯依次与 2 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'-(2-硝基苯基)脲、N-苯基-N'-(3-硝基苯基)脲 和 N-苯基-N'-(4-硝基苯基)脲。3 种化合物在 0.01~1.00 mg/L 时均对细胞分裂有明显的促进作用,其中 N-苯基-N'-(3-硝基苯基)脲的活性最高。

[参考文献]

[1] 李雄彪. 简明植物生物化学 [M]. 天津:南开大学出版社, 1992:18-19.

Li X B. Concise plant biochemistry [M]. Tianjin: Naikai University Press,1992:18-19. (in Chinese)

[2] 韩熹莱,钱传范,陈馥衡,等. 中国农业百科全书农药 [M]. 北京:中国农业出版社,1993:21-23.
Han X L,Qian C F,Chen F H,et al. Chinese agricultural encyclopedia,Pesticide [M]. Beijing: Chinese Agriculture Press, 1993:21-23. (in Chinese)

[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;Poland,123410 [P]. 1984-11-15.

[5] Okamoto T,Isogai Y,Shudo K,et al. N-(2-chloro-4-pyridyl) ureas useful in plant growth regulating composition;Germany, 2843722 [P]. 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. 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-acrolyl-N'-phenylurea 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,1998,37(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; World Intellectual Property Organization,8702665 [P]. 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]. World Pesticides, 1990, 24 (4): 40-44. (in Chinese)

[13] 马庆虎. 植物激素的生物试法(一)——细胞分裂素 [J]. 植物杂志,1987(2):40-41.
Ma Q H. Biological screening on one category of phytohormones-cytokinin [J]. Plants,1987(2):40-41. (in Chinese)

《农产品加工》2010 年征订启事

《农产品加工》(旬刊)为中国科技核心期刊、中国北方优秀期刊,是国内惟一的专门服务于农产品加工业的专业媒体,被农业部农产品加工局指定为农产品加工业主流媒体,并与国家农产品加工技术研发中心合办刊物。其商标被国家工商总局注册登记,已进入中国科技核心期刊行列,是新闻出版总署农家书屋重点推荐期刊。

《农产品加工》上旬出版《农产品加工》(邮发代号 22—121);中旬出版《农产品加工·创新版》(邮发代号 22—150);下旬出版《农产品加工·学刊》(邮发代号 22—19)。

3 个版本单独发行,每册定价 8 元,全年 96 元,全国各地邮局均可订阅,逾期可直接与本刊广告发行部联系订阅。

欢迎订阅,敬请赐稿,欢迎刊登广告。
电 话:0351-4606085 4606086 4606089(传真)
联系电话:山西省太原市双塔东街 124 号闻汇大厦 B 座 2102 室
邮 编:030012 网 址:www.ncpjg.com
E-mail:ncpjg@163.com(综合刊) ncpjgzk@163.com(学刊)
ncpjgcx@163.com(创新刊)