

文章编号:1671-6833(2010)04-0108-03

磷酸基吡咯/氨基酸缀合物的合成及结构表征

李 慧, 杨 宇

(中原工学院 材料与化工学院, 河南 郑州 450007)

摘 要: 合成了新型的磷酸基吡咯/氨基酸缀合物, 检测了该化合物的 ^1H NMR, ^{31}P NMR, IR 和 ESI-MS/MS 图谱, 确定了该化合物的结构, 通过 HMQC 技术进一步确定其结构并解析了此类化合物的质谱裂解规律。

关键词: NMR; ESI-MS/MS; 磷酸基吡咯/氨基酸缀合物

中图分类号: O625.14 **文献标识码:** A

0 引言

众所周知, DNA 是许多抗肿瘤药的靶分子^[1]. DNA 小沟区是 AT 富集区, 它易结合一些由咪唑或吡咯基团组成的“月牙”形状的小分子物质^[2]. X 衍射及核磁共振谱的研究结果表明, 含有聚吡咯骨架的纺锤菌素和偏端霉素是碱基特异性地结合在 DNA 双螺旋结构小沟里^[3-6], 这就是该抗生素具备抗菌、抗病毒和抗癌作用的主要原因. 相比于天然的抗生素, 合成的聚酰胺具有更强的结合活性和识别特异性^[7]. 笔者发现一些小肽具有良好的生物活性, 例如, 二异丙氧基磷酸化组氨酸能够定点切割 DNA. 为获得新型活性小分子, 设计合成了磷酸基吡咯/氨基酸缀合物, 并研究了它们的电喷雾质谱裂解规律, 该研究结果有助于理解这些活性小分子的作用机制和代谢途径.

1 实验部分

1.1 实验仪器

核磁共振仪器为 Bruker AVANCE DPX-400, CDCl_3 为溶剂, TMS 为内标; ESI-MS/MS 用 Bruker-Esquire 3000 离子阱液相色谱质谱仪测定.

1.2 磷酸基吡咯/氨基酸缀合物的合成及表征

合成路线如图 1 所示, 化合物 1 和 3 参照文献^[4-6], 以片断合成方法自制.

取 0.31 mmol 3, 溶于 15 mL 二氯甲烷, 加催化量的 Pd/C, 抽去里面空气, 通入氢气, 常温搅拌

反应 18 h. 之后在氮气保护下用硅藻土过滤掉炭, 得 $\text{H}_2\text{NPy}-\text{OCH}_3$ 溶液, 加入 0.5 mL 三乙胺, 然后滴加 0.2 mL 乙氧正丁氧基磷酰氯 ($(\text{EtO})(n-\text{C}_4\text{H}_9\text{O})\text{POCl}_2$), 冰盐浴条件下反应 24 h. 抽滤掉三乙胺盐, 蒸去溶剂得棕黄色黏稠液体, 柱层析分离 (CHCl_3 和 $\text{CHOH} =$ 体积比 20:1), 得产物, 表征数据如下:

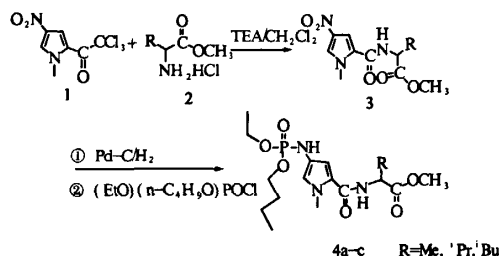


图 1 化合物 4 的合成路线

Fig. 1 Synthesis route of compound 4

4a: 褐色黏稠物, 产率 62%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ : 6.50 (s, 1H), 6.35 (s, 1H), 6.31 (d, 1H, $J = 6.4$ Hz) (-NH), 4.95 (s, 1H) (-NH), 4.67 (m, 1H) (-CH), 4.08 (m, 4H) (2-OCH₂), 3.84 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 1.66 (m, 2H) (-CH₂), 1.47 (d, 3H, $J = 7.2$ Hz) (-CH₃), 1.37 (m, 5H) (-CH₂-CH₃), 0.92 (t, 3H, $J = 7.4$ Hz) (-CH₃); ^{31}P NMR (162 MHz, CDCl_3), δ : 3.96; IR (KBr) ν : 3272 2959 1743 1648 1526 1457 1206 1024 cm^{-1} ; ESI-MS: 390.3 [$\text{M} + \text{H}$]⁺, 412.3 [$\text{M} + \text{Na}$]⁺.

收稿日期: 2010-02-10; 修订日期: 2010-04-01

作者简介: 李慧 (1969-), 女, 福建晋江人, 中原工学院讲师, 硕士, 主要从事有机化学方面的研究.

4b: 褐色黏稠物, 产率 67%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ : 6.52 (s, 1H), 6.35 (s, 1H), 6.24 (d, 1H, $J=8.8$ Hz) (-NH), 4.98 (m, 1H), 4.64 (m, 1H) (-CH), 4.09 (m, 4H) (2-OCH₂), 3.84 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 2.22 (m, 1H) (-CH), 1.67 (m, 2H) (-CH₂), 1.37 (m, 5H) (-CH₂-CH₃), 0.94 (m, 9H) (3-CH₃); ^{31}P NMR (162 MHz, CDCl_3), δ : 3.91; IR (KBr) ν : 3436 3268 2962 1741 1653 1509 1462 1239 1025 cm^{-1} ; ESI-MS: 418.3 [M+H]⁺, 440.3 [M+Na]⁺; HRMS calcd for 456.1666 C₁₈H₃₂N₃O₆KP, found 456.1673.

4c: 褐色黏稠物, 产率 70%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ : 6.50 (s, 1H), 6.34 (s, 1H), 6.12 (d, 1H, $J=8.4$ Hz) (-NH), 5.16 (d, 1H, $J=7.4$ Hz) (-NH), 4.71 (m, 1H) (-CH), 4.12 (m, 4H) (2-OCH₂), 3.84 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 1.67 (m, 6H) (3-CH₂), 1.37 (m, 5H) (-CH₂-CH₃), 0.97 (d, 6H, $J=5.9$ Hz) (2-CH₃), 0.92 (t, 3H, $J=7.4$ Hz) (-CH₃); ^{31}P NMR (162 MHz, CDCl_3), δ : 3.98; IR (KBr) ν : 3423 2959 1741 1652 1581 1526 1440 1204 1025 cm^{-1} ; ESI-MS: 432.4 [M+H]⁺.

2 结果与讨论

在所合成的目标化合物中, 吡咯杂环的氢在 $\delta 7.0 \sim 8.0$ 之间出峰, 而吡咯杂环上 N-甲基和氨基酸甲酯中的甲基一般在 $\delta 4.0 \sim 3.7$ 之间出单峰. 氨基酸的手性碳上的氢原子受相连 NH 及相邻烷基氢的影响, 通常被裂分为 $2 \times (n+1)$ 重峰, 例如 4a 的手性氢裂分为 8 重峰, 4b 裂分为 4 重峰, 4c 的是 4 重峰. 另外, 在 4b 的烷基有 -CH(CH₃)₂ 受与之相连的手性氢的影响, 两个甲基化学不等价, 裂分为四重峰.

目标化合物中磷酸酯连有不同的烷氧基, 即乙氧基和正丁氧基, 与氧相连的两个亚甲基由于受相连甲基和亚甲基的影响, 在 $\delta 4.0 \sim 4.2$ 之间出多重峰. 而 -OCH₂CH₃ 的甲基在 $\delta 0.9 \sim 0.8$ 出三重峰, 氨基酸的烷基的峰与之相比在低场出现.

为进一步证实推断, 做了磷酸基吡咯/氨基酸缀合物的磷氢相关谱, 如图 2 所示. 图 2 上很容易发现, 与磷酸基连的胺氢的化学位移在 $\delta 5.0 \sim 5.2$ 之间出现. 另外, 与磷相邻的两个 -OCH₂ 也受磷的耦合影响, 因此, 在图 2 上可观察到 4 个相关.

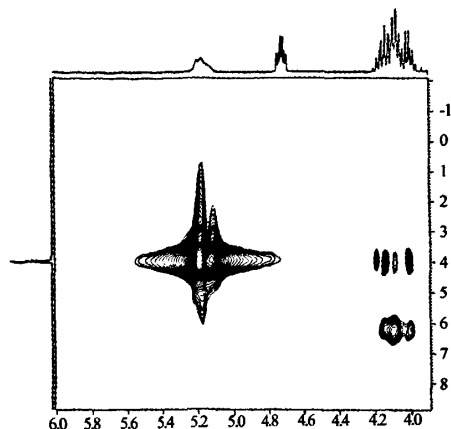


图 2 4c 的 HMQC 图

Fig. 2 HMQC of 4c

化合物 3 的质谱裂解特点是逐级失去 CH₃OH, CO. 由于磷酸酯的引入, 目标化合物 4 的质谱裂解有不同于 3 的规律. 在裂解的过程中首先是酰胺键的断裂, 失去一分子的氨基酸甲酯, 在三级质谱图中, 主要是与磷相连的烷氧基的断裂, 得到特征性的碎片离子 $m/z = 259$ 和 231, 分别对应失去一分子的 CH₂=CH₂, CH₂=CHCH₂CH₃, 在四级质谱中再发生同样的裂解, 得到同一种碎片离子 $m/z = 203$, 由于磷上有 2 个羟基, 它特别容易脱去一分子磷酸, 得到碎片为 NH₂-Py-C=O⁺ ($m/z = 123$) 的离子. 碎片离子 $m/z = 203$ 也有少量的脱 H₂O, 形成 $m/z = 185$ 碎片.

3 结论

合成了系列磷酸基吡咯/氨基酸缀合物, 利用核磁共振谱、红外光谱、电喷雾质谱、高分辨质谱等分析手段对化合物结构进行表征. 研究发现氨基酸的手性碳上的氢原子受相连 NH 及相邻烷基氢的影响, 被裂分为 $2 \times (n+1)$ 重峰; 此类化合物的质谱裂解规律是分子内的酰胺键为易断裂位点, 含磷化合物的碎片离子在离子阱中会发生水解现象. 关于这类化合物结构表征的研究并不多见, 因此, 本工作对于表征多聚酰胺类化合物具有一定的参考价值.

参考文献:

- [1] WHITE S, SZEWCAYK J W, TUMER J M. Recognition of the four Watson-Crick base pairs in the DNA minor groove by synthetic ligands [J]. Nature 1998, 391: 468-469.

(下转第 120 页)

Bi-level Programming Model for Vehicle Allocation Bus Line

DI Zhen^{1,2}, ZHA Wei-xiong¹

(1. Institute of Transportation and Economics, East of China JiaoTong University, Nanchang 330013, China; 2. Department of Science, NanChang Institute of Technology, Nanchang 330099, China)

Abstract: Conventional public transport is essential for travelling of ordinary people, but how to determine the vehicle allocation is difficult for public transport enterprises. On analyzing the impact of factor about the vehicle allocation——corporate behavior, passenger behavior and government behavior we find that it is a leader-follower countermeasure question, Transit enterprises are upper decision-makers, and passengers are lower decision-makers. This question can be expressed by bi-level programming model. Finally, the model and algorithm were tested according to an example, and the optimal vehicle allocation of a bus line was obtained. The result shows that the model and algorithm are reasonable and effective.

Key words: engineering of communications and transportation system; vehicle allocation; bi-level programming model; public transport

(上接第 109 页)

- [2] NMR structure of a cyclic polyamide-DNA complex [J]. Am. Chem. Soc. 2004, 126: 7958-7966.
- [3] DICKINSON L A, GULIZIA R J, TRAUGER J W Inhibition of RNA polymerase II transcription in human cells by synthetic DNA-binding ligands [J]. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 1998, 95: 12890-12895.
- [4] YE Y, CAOL, NIU M, et al. ESI-MS fragmentation pathways of N-methylpyrrole polyanide/peptide conjugates [J]. Mass. Spectro. 2006, 253(1/2): 141.
- [5] YE Y, ZHONG S, LIU R, et al. The synthesis of Diltiazem Analog containing phosphonyl group [J]. Phosphorus sulfur 2007, 182(10), 2251-2257.
- [6] 叶勇, 杨俊亮, 刘艳红, 等. 偏端毒素衍生物与 DNA 相互作用的圆二色谱测定 [J]. 郑州大学学报: 医学版, 2009, 44(06): 1161-1163.

Synthesis and Characterization of Phosphonyl Pyrrole /amino Acid Conjugates

LI Hui, YANG Yu

(School of Materials & Chemical Engineering, Zhongyuan University of Technology, Zhengzhou 450007, China)

Abstract: A series of phosphonyl pyrrole /amino acid conjugates were synthesized. Their structure were confirmed by ¹H NMR, ³¹P NMR, IR and ESI-MS/MS. Their structures were also characterized with the HMQC method. The main fragmentation pathways in ESI-MS were proposed.

Key words: NMR; ESI-MS/MS; phosphonyl pyrrole/amino acid conjugates