

文章编号: 1000-4556(2007)02-0147-07

双分子缬氨酸氢磷烷构型的确定

曹书霞^{1*}, 刘金明¹, 郭艳春¹, 方 芳¹, 廖新成¹, 赵玉芬^{1,2*}

(1. 河南省化学生物学与有机化学重点实验室, 郑州大学 化学系, 河南 郑州, 450052;

2. 生命有机磷化学与化学生物学教育部重点实验室, 清华大学 化学系, 北京 100084)

摘 要: 以缬氨酸为原料, 和三氯化磷反应合成了双分子缬氨酸氢磷烷. 采用¹H NMR、¹³C NMR、¹H-¹H COSY、DEPT 和 HSQC 等技术确证了目标化合物的结构; 对其¹H NMR 和¹³C NMR 信号进行了归属, 同时利用 IR 和 ESI-MS 验证了其结构. ³¹P NMR 显示所得产物为缬氨酸氢磷烷的一对非对映异构体, 利用 NOESY 技术对分离得到的其中一种异构体绝对构型进行了确定, 该结果得到了 X-射线单晶衍射的验证.

关键词: NMR; 归属; 绝对构型; 2D NMR; 缬氨酸氢磷烷**中图分类号:** O627.51 **文献标识码:** A

引言

磷烷(Phosphoranes), 又称作五配位磷化合物, 在有机磷化学中起着重要作用, 许多三、四配位磷化合物参与反应的中间体是五配位磷化合物. 近几十年来, 对五配位磷化合物的研究已发展成为一个十分活跃的研究领域^[1-4]. 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质的磷酸化与去磷酸化, 信息传导过程中蛋白质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, 这些磷酸基转移反应都是通过五配位磷中间体来完成的, 因此对五配位磷化合物的研究具有重要的生物学意义.

在五配位磷化合物中, 存在着一类特殊的五配位磷化合物-氢磷烷. 它是指含有 P-H 键的五配位磷化合物. 氢磷烷具有许多特殊的化学性质, 可以用来合成一些重要化合物^[5]. 目前人们已经合成了近万种磷烷化合物, 但对于对称的双分子氨基酸氢磷烷的合

收稿日期: 2006-06-28; 收修改稿日期: 2006-08-07

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20472076); 河南省自然科学基金资助项目(200510459015).

作者简介: 曹书霞(1968-), 女, 河南濮阳人, 博士, 副教授, 从事化学生物学研究工作. 电话: 0371-67767050, E-mail:

csx@zzu.edu.cn. * 通讯联系人.

成文献报道较少^[6,7], 并且仅合成了甘氨酸、丙氨酸等少数几个氨基酸的双分子氢磷烷. 最新的文献^[8]报道此类对称的双分子氨基酸氢磷烷对酪氨酸酶均有不同程度的抑制活性, 研究表明此类双分子氨基酸五配位氢磷烷有望发展成为一类新型高效的酪氨酸酶抑制剂.

本文以缬氨酸为原料, 和三氯化磷反应合成了双分子缬氨酸氢磷烷. 并利用 1D NMR 和 2D NMR 技术, 对合成的缬氨酸氢磷烷进行了¹H NMR、¹³C NMR 和³¹P NMR 检测, 通过 DEPT 和¹H-¹H COSY, HSQC 等 2D NMR 技术对其¹H 和¹³C NMR 数据进行了归属, 同时利用 IR 和 ESI-MS 验证了其结构. 并利用 NOESY 技术对分离得到的缬氨酸氢磷烷一对非对映异构体中的一种构型进行了构型确定, 这对于分析类似的具有生物活性的氢磷烷类化合物的构型将起到重要参考作用.

1 实验部分

1.1 缬氨酸氢磷烷的合成

取 8.5 mmol 的缬氨酸于三口瓶中, 加入 25 mL THF 做溶剂, 依次加入 8.5 mmol PCl₃、25.5 mmol 三乙胺, 在 75 °C 下磁力搅拌回流反应. 反应 2~3 h 后停止反应, 旋干溶剂, 用碳酸氢钠饱和溶液中和反应液至 pH=7~8, 抽滤, 用水溶液多次冲洗, 得到白色粗品. 所得粗品用硅胶柱分离(硅胶柱 3.0×25 cm, 洗脱剂为甲醇:乙酸乙酯=1:19), 最后用丙酮重结晶得白色针状晶体. 其合成路线如图 1 所示, 得产品 0.46 g, 产率 41%, mp: 290 °C(分解), ESI-MS, *m/z*: 263 [M+H]⁺, 285 [M+Na]⁺.

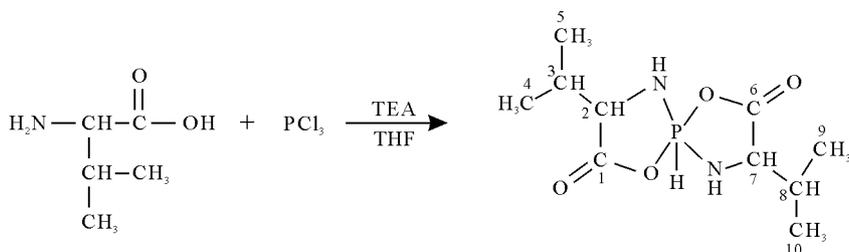


图 1 缬氨酸氢磷烷的合成路线

Fig. 1 Synthetic pathway of valine hydridophosphorane

1.2 仪器与检测条件

熔点用 XT 4A 型显微熔点测定仪测定(温度未校正); ESI-MS 用 Bruker Esquire3000 离子阱液相色谱电喷雾质谱仪测定; IR 由 Thermo Nicolet IR200 型红外光谱测定仪测定; X-射线晶体衍射数据由 Rigaku-AXB-IV 日本理学电机 X-射线面探仪测定; 将缬氨酸氢磷烷样品溶解于氘代的氯仿溶剂中, 进行 NMR 测定, 所有图谱在 Bruker AVANCE DPX-400 谱仪上完成.¹H NMR 的观测频率是 400.13 MHz, ¹³C NMR 的观测频率是 100.62 MHz, ³¹P NMR 的观测频率是 161.98 MHz, ¹H 90°脉冲宽度为 10.8 μs, ¹³C 90°脉冲宽度为 6.5 μs, ³¹P 90°脉冲宽度为 18.8 μs; 二维谱均采用正检测探头, ¹H-¹H COSY 实验谱宽为 2 723 Hz, 累加次数为 16, 采样数据点阵 *t*₂×*t*₁=1 024×512, 零填充后 FT 变换点阵 *F*₂×*F*₁=2 048×1 024, HSQC 实验中¹³C 谱宽为 16 100 Hz, 采样数据点阵 *t*₂×*t*₁=1 024×512. NOESY 实验混合时间为 350 ms.

2 结果与讨论

首先利用 ^1H - ^1H COSY 和 DEPT、HSQC 技术对缬氨酸氢磷烷 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 核磁数据进行了归属, 并对其 IR 数据进行了分析, 结果如下.

^1H NMR (CDCl_3): δ 0.97(d, 6H, $J=6.8$ Hz, H-4,5 or 9,10), 1.03(d, 6H, $J=6.8$ Hz, H-9,10 or 4,5), 2.18(m, 2H, H-3,8), 3.37(d, 2H, $J=18.0$ Hz, -NH), 3.81(dd, 2H, $J=3.2, 12.4$ Hz, H-2,7), 7.35(d, 1H, $J=813.2$ Hz, -PH).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 16.76(C-4,5 or 9,10), 19.11(C-9,10 or 4,5), 31.05(d, $J=2.2$ Hz, C-3,8), 59.96(d, $J=4.8$ Hz, C-2,7), 170.0(d, $J=6.5$ Hz, C-1,6).

^{31}P NMR (CDCl_3): δ -67.81.

IR (KBr, cm^{-1}): 3 314(s, $\nu_{\text{N-H}}$); 2 967、2 877(s, $\nu_{\text{C-H}}$); 2 439(w, $\nu_{\text{P-H}}$); 1 736(s, $\nu_{\text{C=O}}$); 1 669(s, $\delta_{\text{N-H}}$); 1299(s, $\nu_{\text{C-N}}$); 820(m, $\nu_{\text{P-N}}$).

缬氨酸氢磷烷具有 1,3,2-氧氮磷杂环的特殊结构. 从氢谱上可以发现磷对亚氨基氢的偶合($^2J_{\text{H-N-P}}=18.0$ Hz), 而碳谱上可以观察到磷对羰基碳的偶合($^2J_{\text{C=O-P}}=6.5$ Hz), 这些都说明了 1,3,2-氧氮磷杂环的存在. 其中磷对亚氨基氢的偶合常数为 18.0 Hz, 这是氨基酸五配位磷化合物结构形成的特征信号. 因为亚氨基氢处于刚性环上, 其自由转动被限制, 相应亚氨基氢的交换速度也变慢, 其偶合常数的大小一般在 16~22 Hz^[9].

文献报道^[10,11]的氨基酸氢磷烷均为一对非对映异构体. 本文所合成的缬氨酸氢磷烷在磷谱上也出现两个峰, ^{31}P NMR (CDCl_3): δ -64.66 和 -67.81, 如图 2 所示, 左侧为去偶的磷谱, 右侧图为不去偶的磷谱.

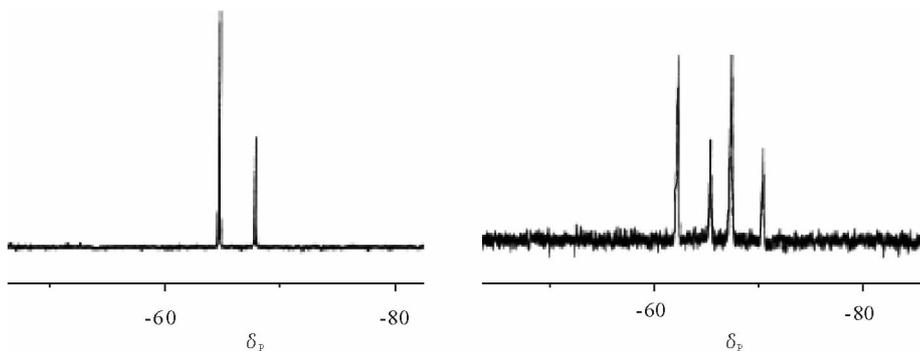


图 2 缬氨酸氢磷烷的去偶(左)及不去偶磷谱(右)

Fig. 2 Decoupling (left) and coupling (right) ^{31}P NMR spectra of valine hydridophosphorane

在磷谱上出现的两个峰对应着一对非对映异构体, 分别在 δ -64.66 和 δ -67.81 给出两个共振信号. 由不去偶的磷谱可知二种缬氨酸氢磷烷的 P-H 一键偶合常数分别为 826 和 813 Hz. 产生非对映异构体的原因是由于缬氨酸氢磷烷分子中有三个手性中心, 一个是手性磷原子, 另两个是缬氨酸的手性碳原子. 由于在反应过程中不涉及到氨基酸的手性碳原子的变化, 反应过程中不可能出现氨基酸手性碳构型的变化, 因此所得产物中手性碳的构型应该同起始反应物缬氨酸仍是 L 构型, 所以推断所得缬氨酸氢磷烷的非对映异构体是由于 P 的手性引起的. Trippett 等人^[12]研究发现在五配位磷化合物的五元环中, 具有孤电子对或电负性小的杂原子易占据 e 轴. 对于 1,3,2-氧氮磷杂环的结构应

该以氧原子占据 a 轴的结构为主. 并且凡是带有环系的五配位磷化合物, 环系相邻两个边分别占据 a 轴和 e 轴上. 因此推测所得到的缬氨酸氢磷烷的一对非对映体中的构型应如图 3 所示.

我们对得到的缬氨酸氢磷烷进行纯化时发现, 经合适的重结晶条件, 可以得到其中一种构型的产物. 该构型的缬氨酸氢磷烷的 ^{31}P NMR 谱图中只出现一根峰, 其共振信号出现在 $\delta -67.81$ 处. 但是所得缬氨酸氢磷烷晶体是对应于图 3 结构中的 (a) 构型还是 (b) 构型还无法判断. 由于 (a) 构型中 P-H 与缬氨酸次甲基中的 2 个 C-H 空间上位于相反的两侧, 而 (b) 构型中 P-H 与次甲基中的 2 个 C-H 空间上位于相同的方向, 因此若 (b) 构型中 P-H 与次甲基中的 2 个 C-H 空间上距离合适, 则在氢谱中有可能会有 NOE 效应, 但是 (a) 构型中 P-H 由于与次甲基中的 2 个 C-H 空间上位于相反的两侧, 则不可能有 NOE 现象. 为了确证所得缬氨酸氢磷烷晶体的构型, 我们利用核磁共振 NOESY 谱对其进行了测定, 缬氨酸氢磷烷的 NOESY 谱(局部放大)如图 4 所示.

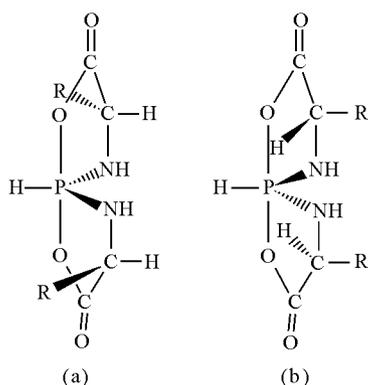


图 3 缬氨酸氢磷烷非对映异构体构型示意图
Fig. 3 Diastereomers configurations of valine hydridophosphorane

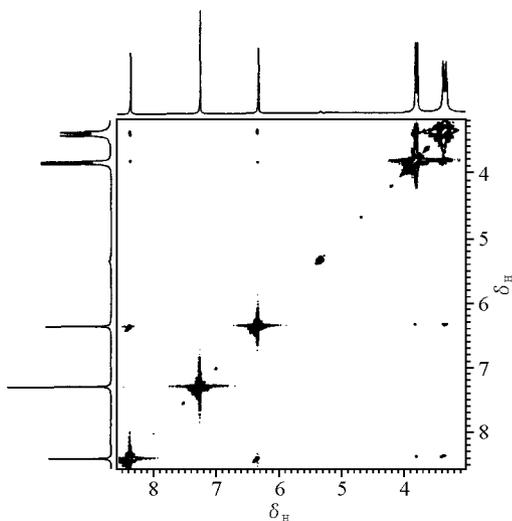


图 4 缬氨酸氢磷烷的 NOESY 谱图
Fig. 4 NOESY spectrum of valine hydridophosphorane

由图 4 可以清晰地观察到 P-H(6.32, 8.39)与次甲基中的 2 个 C-H(3.81)之间具有 NOE 效应, 因此推断所得缬氨酸氢磷烷晶体为图 3 中的 (b) 构型, 而磷谱中位于低场的信号 $\delta -64.66$ 则对应于图 3 中的 (a) 构型.

经过不断的试验培养, 得到了此单一构型缬氨酸氢磷烷的单晶. 缬氨酸氢磷烷($\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_4\text{P}$)所得单晶为无色菱形晶形, 单斜晶系, $Z=2$, $FW=262.24$, $T=291(2)\text{ K}$, $\lambda=0.071073\text{ nm}$, 单个晶胞尺寸: $a=1.0428(2)\text{ nm}$, $\alpha=90^\circ$; $b=0.60434(12)\text{ nm}$, $\beta=103.41^\circ(3)$; $c=1.1232(2)\text{ nm}$, $\gamma=90^\circ$. 体积 $V=0.6886(2)\text{ nm}^3$, 计算密度值为 1.265 Mg/m^3 , $F(000)=280$. 化合物的 X-射线单晶衍射图见图 5.

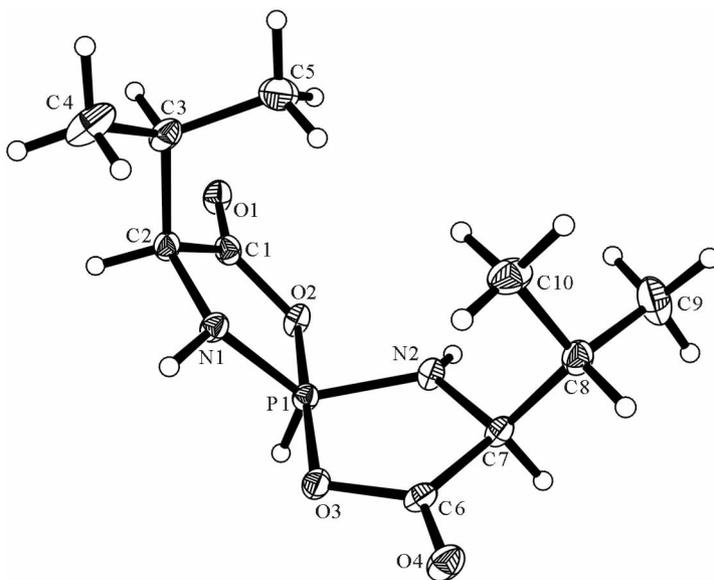


图 5 缬氨酸氢磷烷的单晶结构示意图

Fig. 5 Molecular structure of valine hydridophosphorane as shown by X-ray

由图 5 单晶结构示意图可以清晰地看到缬氨酸氢磷烷分子中 P-H 键中的氢原子和次甲基上 C-H 键上的氢原子位于五元环的同侧，因此可以确定我们重结晶所得到的具有单一构型的缬氨酸氢磷烷的绝对构型确实为图 3 中的 (b) 构型，此结论和利用 NOESY 技术推得构型一致。缬氨酸氢磷烷的单晶衍射所得键长、键角数据见表 1 和表 2。

表 1 缬氨酸氢磷烷的键长数据 (0.1 nm)

Table 1 Bond length data (0.1 nm) of valine hydridophosphorane

bond	bond length	bond	bond length
P(1)-N(1)	1.634(5)	N(2)-C(7)	1.459(7)
P(1)-N(2)	1.637(4)	N(2)-H(2E)	0.974(11)
P(1)-O(3)	1.738(4)	C(1)-C(2)	1.493(9)
P(1)-O(2)	1.747(4)	C(2)-C(3)	1.546(8)
P(1)-H(1F)	1.477(10)	C(3)-C(4)	1.516(12)
O(1)-C(1)	1.220(7)	C(3)-C(5)	1.521(9)
O(2)-C(1)	1.334(7)	C(6)-C(7)	1.516(8)
O(3)-C(6)	1.337(7)	C(7)-C(8)	1.538(8)
O(4)-C(6)	1.209(7)	C(8)-C(9)	1.529(12)
N(1)-C(2)	1.455(8)	C(8)-C(10)	1.524(9)

表 2 缬氨酸氢磷烷的键角数据($^{\circ}$)Table 2 Bond angle data ($^{\circ}$) of valine hydridophosphorane

bond	bond angle	bond	bond angle
N(1)-P(1)-N(2)	123.6(2)	N(1)-C(2)-C(3)	114.0(5)
N(1)-P(1)-O(3)	90.5(2)	C(1)-C(2)-C(3)	111.3(5)
N(2)-P(1)-O(3)	89.4(2)	C(4)-C(3)-C(5)	111.7(7)
N(1)-P(1)-O(2)	89.7(2)	C(4)-C(3)-C(2)	1101.7(6)
N(2)-P(1)-O(2)	89.8(2)	C(5)-C(3)-C(2)	112.0(5)
O(3)-P(1)-O(2)	179.2(2)	O(4)-C(6)-O(3)	122.9(6)
C(1)-O(2)-P(1)	114.5(4)	O(4)-C(6)-O(7)	125.7(5)
C(6)-O(3)-P(1)	116.12(4)	O(3)-C(6)-O(7)	111.4(5)
C(2)-N(1)-P(1)	118.0(4)	N(2)-C(7)-C(6)	104.5(4)
C(7)-N(2)-P(1)	118.3(4)	N(2)-C(7)-C(8)	114.7(5)
O(1)-C(1)-O(2)	122.0(6)	C(6)-C(7)-C(8)	110.6(5)
O(1)-C(1)-C(2)	125.1(5)	C(9)-C(8)-C(10)	112.7(7)
O(2)-C(1)-C(2)	113.0(5)	C(9)-C(8)-C(7)	110.0(6)
N(1)-C(2)-C(1)	104.6(4)	C(10)-C(8)-C(7)	111.2(5)

3 结论

本文以缬氨酸为原料,和三氯化磷反应合成了双分子缬氨酸氢磷烷.首先采用 ^1H NMR、 ^{13}C NMR、 ^1H - ^1H COSY、DEPT 和 HSQC 等技术确证了目标化合物的结构;对其 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 信号进行了归属,同时利用 IR 和 ESI-MS 验证了其结构.对于分离提纯得到的缬氨酸氢磷烷一对非对映异构体中的一种,利用 NOESY 技术对其绝对构型进行了确定,该结果同时得到了 X 射线单晶衍射的验证.此研究对于分析类似的氢磷烷类化合物的构型将起到重要参考作用.

参考文献:

- [1] Chen Ru-yu(陈茹玉), Liu Lun-zu(刘纶祖). Study on organophosphorus chemistry(有机磷化学研究) [M]. Beijing(北京): Higher Education Press(高等教育出版社), 2001. 203.
- [2] Fu H, Tu G Z, Li Z L, *et al.* New and efficient approach to the synthesis of pentacoordinate spirobicyclic phosphoranes [J]. J Chem Soc, Perk I, 1997, 1: 2 021-2 022.
- [3] Li Guo-wei(李国炜), Liu Lun-zu(刘纶祖), Cao Ru-zhen(曹如珍), *et al.* ^{31}P NMR spectra characterization for some pentacoordinated phosphorus compounds(某些五配位磷化合物的 ^{31}P NMR 谱表征) [J]. Chinese J Magn Reson(波谱学杂志), 1995, 21(2): 87-94.
- [4] Hu Wen-xiang(胡文祥), Yuan Cheng-ye(袁承业). Structural effects on NMR of 4,2 substituted bicyclic phosphates(双环磷酸酯类化合物 NMR 结构效应研究)[J]. Chinese J Magn Reson(波谱学杂志), 1993, 10(4): 56-59.
- [5] Liu Lun-zu(刘纶祖), Liu Zhao-jie(刘钊杰). An introduction to organophosphorus chemistry(有机磷化学导论)

- [M]. Wuhan(武汉): Central China Normal University Press(华中师范大学出版社), 1991. 182.
- [6] Liu L Z, Li G W, Huang M Z, *et al.* Synthesis and reactivity of spirohydridophosphorane containing α -amino-acetoxy group [J]. Chinese Chem Lett, 1992, 3(5): 341–342.
- [7] Garrigues B, Munoz A, Koenig M, *et al.* Spirophosphoranylation D α -aminoacids—I preparation et tautomerie [J]. Tetrahedron, 1977, 33: 635–643.
- [8] Yu L, Liu Z, Fang H, *et al.* Synthesis, characteristics, biological activity of pentacoordinated spirophosphoranes derived from amino acids [J]. Amino Acids, 2005, 28: 369–372.
- [9] Munoz A, Garrigues B, Wolf R. Preparation of tri- and pentacoordinated phosphorus compounds from hydroxy acids and amino acids [J]. Phosphorus and Sulfur, 1978, 4: 47–52.
- [10] Nakamoto M, Kojima S, Matsukawa S, *et al.* Stereomutation and apicophilicity of diastereomeric spirophosphoranes (10-P-5) [J]. J Org Chem, 2002, 643–644; 441–452.
- [11] Lu K, Tu G Z, Guo X F, *et al.* Structure and isomerization of o,o-phenylene penta-coordinated phosphoryl serine [J]. J Mol Struct, 2002, 610(1–3): 65–72.
- [12] Bones S A, Trippett S, White M W, *et al.* Strain factors in five-membered pentavalent phosphoranes[J]. Tetrahedron Lett, 1974, 20: 1 795–1 796.

Configuration Determination of Bimolecular L-Valine Hydridophosphorane

CAO Shu-xia^{1*}, LIU Jin-ming¹, GUO Yan-chun¹, FANG Fang¹,
LIAO Xin-cheng¹, ZHAO Yu-fen^{1,2*}

(1. The Key Laboratory of Chemical Biology and Organic Chemistry, Department of Chemistry,
Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China;

2. Department of Chemistry School of Life Sciences and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: Bimolecular L-valine hydridophosphorane was synthesized by the reaction between L-valine and phosphorus trichloride in tetrahydrofuran (THF). Complete assignment of the ¹H and ¹³C NMR chemical shifts of the compound was obtained by 2D NMR techniques, including ¹H-¹H COSY, DEPT and HSQC. Based on the results of NMR characterization, the structure of L-valine hydridophosphorane was elucidated. The ³¹P NMR spectrum of the compound showed two separated peaks at δ - 64.66 and δ - 67.81, suggesting that it is comprised of a pair of diastereomers. The configuration of one of the diastereomers was determined by NOESY, and further confirmed by X-ray crystallography.

Key words: NMR, assignments, configuration, valine hydridophosphorane

* Corresponding author; Cao Shu-xia, Tel:0371-67767050, E-mail:csx@zzu.edu.cn.