

DL-Aminoalkyl Phosphonic Acid 와 그 유도체들의 합성(제 3 보)

盧 萬 均 · 金 容 駿

고려대학교 이공대학 화공과
(1972. 11. 29 접수)

Synthesis of DL-Aminoalkyl Phosphonic Acids and Their Derivatives (III)

Man Khyun Rho and Yong Joon Kim

Department of Chemical Engineering, Korea University, Seoul, Korea,
(Received Nov. 29, 1972)

요약. Curtius reaction 을 이용하여 pentanoic acid 로 부터 DL-1-aminobutylphosphonic acid 를 합성하였고, pyruvic acid 로 부터 DL-2-amino-2-carboxyethylphosphonic acid 를 합성하였다. 아직 발표된 바 없는 이들의 N-acyl 유도체들을 Schotten Bauman 방법 등으로 합성하였다. 그 화합물들은 다음과 같다.

N-acetyl-DL-1-aminobutylphosphonic acid
N-benzoyl-DL-1-aminobutylphosphonic acid
N-benzoyl-DL-2-amino-2-carboxyethylphosphonic acid
N-p-chlorobenzoyl-DL-2-amino-2-carboxyethylphosphonic acid.

이 유도체들은 원소분석, IR spectra, ninhydrin test 및 증화당량으로 확인하였다.

Abstract. DL-1-aminobutylphosphonic acid was synthesized from the pentanoic acid which was prepared from the butyl alcohol, by the modified Curtius reaction. DL-2-amino-2-carboxyethylphosphonic acid was also synthesized from the pyruvic acid.

Four previously unreported N-acylated derivatives were prepared according to the modified Schotten-Baumann method. They are as follows;

N-acetyl-DL-1-aminobutylphosphonic acid
N-benzoyl-DL-1-aminobutylphosphonic acid
N-benzoyl-DL-2-amino-2-carboxyethylphosphonic acid
N-p-chlorobenzoyl-DL-2-amino-2-carboxyethylphosphonic acid

The products were identified by the methods of elemental analysis, infrared spectra, ninhydrin test, and neutralization equivalent.

1. 서 론

생물체 조직의 추출물에서 amino alkyl phos-

phonic acid 가 발견된 후^{1,2,3}, 이 phosphonic acid 의 생화학적 기능에 대한 연구^{4,5}가 계속 발표되고 있다. 또한 amino phosphonic acid 계열

화합물들에 관한 화학적인 합성 방법들에 대해서도 많은 연구^{6,7,8}가 발표되었다. 그 합성 방법들 중 Chambers와 Isbell⁸이 phosphono acetic ester와 hydrazine을 축합반응시켜 Curtius degradation을 통해 몇 가지의 새로운 amino phosphonic acid를 얻었는데, 이는 그 이전의 합성 방법들에 비해 훨씬 높은 수율인 것으로 보고되었다. 이때 합성된 phosphonic acid들은 모두 부채탄소를 갖는 화합물로서 단백질 내의 amino acid와 그 구조식 및 물성이 매우 유사한 것으로 알려졌다.

전보에서 저자들은 Isbell이 발표한 합성경로를 따라 5 종류의 aminoalkylphosphonic acid와 그 N-acyl 유도체들을 합성했음을 보고하였다.

본보에서는 같은 합성 경로에 의해 pentanoic acid로부터 1-aminobutylphosphonic acid를 얻었으며, pyruvic acid로부터 2-amino-3-phosphonopropionic acid를 합성하였다. 또한 아직 문헌에 보고된 바없는 두 phosphonic acid의 N-acyl 유도체들을 합성하여 각각의 물리화학적 성질을 검토하였다. 이 화합물들은 광학적 활성 이성질체들이며 특히 2-amino-3-phosphonopropionic acid는 생체내에서 추출 발견된 화합물³이기 때문에 이들의 광학 활성 이성질체의 분리에 관한 연구는 앞으로 계속될 것이다.

2. 실험

2.1. 분석기기

PH 측정 : Beckman Zeromatic II pH meter, 굴절률측정 : Shimadzu Abbe Refractometer, 비중 측정 : Shimadzu 比重天秤 F型, 융점 측정 : Shimadzu Melting Point Apparatus, I-R spectra: Hitachi I-R Spectrophotometer EPI-G2型.

2.2. 합성

Pyruvic acid는 Matheson Coleman and Bell의 extra pure 제품을 정제하지 않고 사용하였다. valeric acid는 butyl alcohol을 HBr로 bromination한 후 NaCN으로 처리하고 NaOH 용액으로 가수분해하여 얻었다¹⁰.

Ethyl- α -bromovalerate. valeric acid 204 g (2 mole)을 45°C까지 가열한 후 thionyl chloride

153 cc (2.1 mole)를 2시간 동안 천천히 적가하였다. 반응물질의 온도를 65~70°C로 유지시키면서 bromine 115 ml (2.2 mole)를 2시간 동안에 적가하였다. 65~70°C로 반응온도를 유지시키면서 12시간동안 교반한 다음 무수 ethanol 200 ml를 2시간에 걸쳐 적가하였다. 상온으로 냉각시키고 NaHCO₃로 중화, 무수 NaHSO₃에 의한 탈수 후 감압하에 분별증류하였다 (수득율 80%).

b. p 92°C/18 mmHg (문헌 11, 92~4°C/18 mmHg) n_D^{25} 1.4416

Triethyl- α -phosphonovalerate. B. Ackerman 등이 발표한 방법¹²에 의해 ethyl- α -bromovalerate 209 g (1 mole)과 triethylphosphite 332 g (2 mole)의 반응액을 165~170°C에서 4시간동안 교반하여 반응시켰다 (수득율 93%).

b. p 129°C/2 mmHg. (문헌 12, 141°C/4 mmHg) n_D^{25} 1.4575

DL-1-aminobutylphosphonic acid Chambers와 Isbell의 방법⁸을 사용하여 합성하였다. hydrazine 34 g과 triethyl- α -phosphonovalerate 133 g을 24시간동안 격렬히 교반시키면서 반응시킨 후 과량의 hydrazine과 생성된 ethyl alcohol을 감압하에 증류 제거하였다. 증류되고 남은 점도 높은 용액에 물 50 ml와 ether 300 ml를 가하여 희석시켰다. 25% 염산 52 ml와 35% NaNO₂수용액 75 ml를 적가하였다. 이 때의 반응온도는 -3~-5°C를 유지시켰다. ether층 용액에 무수 alcohol 150 ml를 가해 상온에서 40시간동안 방치한 후 ether와 alcohol을 증발시켰다. 25% 염산 400 ml를 가해 steam bath 상에서 48시간동안 환류시켰다. 감압하에 과량의 염산을 증발시켜 제거하였다. propylene oxide를 가했을 때 흰색 침전이 나타났다. ethanol-water 용액으로 재결정하여 DL-1-amino-butylphosphonic acid 16 g을 얻었다. (수득율 32%)

이 화합물은 ether, alcohol, acetone에 용해되지 않았으며 ninhydrin test에 양성을 나타냈다. 융점은 269°C이고, KBr pellet에 의해 얻어진 I-R spectra^{13,14}의 absorption band 및 원소 분석치는 다음과 같다.

C ₇ H ₁₂ NO ₃ P	계산치	N 9.15	P 20.23
	실험치	N 9.20	P 20.01
중화당량	계산치	154	
	치실형	153	

Absorption band. (cm ⁻¹)	Assignment
1515	-N-H
1460	CH-P
1210	P→O
1010	P-OH
1110	C-N

N-acetyl- α -aminoacrylic acid. Wieland¹⁵에 의한 방법에 따라서 acetamide 11.8 g (0.2 mole) 과 pyruvic acid 63 g 을 trichloroethylene 150 ml 와 함께 10 시간동안 가열 반응시켜 냉각시켰다 이때 생성된 침전을 여과 분리하였으며 모액을 50 ml 의 10% NaHCO₃ 용액으로 추출하여 여과한 침전과 합하였다. 이 혼합액을 감압증류하여 미량의 trichloroethylene 을 제거한 후 congo red 가 푸른 색이 될때까지 열산으로 산성화시켰다. 생성된 고체를 빙초산으로 재결정시킨 주생성물은 7.7 g (수득율 50%) 이었다. 이 화합물의 용점은 198°C (문헌¹⁵ 196~198°C) 이었으며 I·R spectrum 과 중화당량으로 확인하였다.

중화당량	계산치	129
	실험치	130

Trimethylphosphite methanol 135 ml 와 dimethylaniline 450 ml, ether 530 ml 를 ice bath 상에서 교반하면서 PCl₃ (1 mole) 를 3 시간 동안에 적하하였다. 반응도중 생성된 amino hydrochloride 의 침전물을 여과하여 제거하고 감압하에 ether 를 증류분리하였다. 진공증류 장치에 의해 증류된 주생성물은 80 g (수득율 65%) 이었다. 이 화합물의 비점 및 굴절율은 다음과 같으며 이는 문헌^{11,16,17}과 일치하였다.

b. p	34°C/16 mmHg
n_D^{20}	1.4095

DL-2-amino-2-carboxyethylphosphonic acid. N-acetyl- α -aminoacrylic acid 12.9 g (0.10 mole) 을 trimethyl-phosphite 24.8 g (0.20 mole) 과 함께

steam bath 상에서 20 분동안 가열시킨 후 dimethylphosphite 14 ml 를 서서히 적하하였다. steam bath 상에서 한 시간동안 가열시킨 후 상온에서 36 시간동안 방치하였다. 진공증류장치를 사용하여 1 mmHg 의 감압하에 150°C 의 oil bath 상에서 증류되는 유분을 제거한 다음 농염산 130 ml 를 모액에 가하여 48 시간동안 steam bath 상에서 환류시켰다. 용액중에 생성된 불순물을 여과 분리하고 여액을 감압하에 증발 건조시켰다. 건조된 고체를 200 ml 의 물에 용해하여 활성탄소와 함께 가열시켰다. 무색의 여액을 20 ml 까지 농축시켜 ethanol 100 ml 를 가하였다. AgNO₃ 수용액에 Cl⁻ 이 음성으로 나타날 때까지 butylene oxide 를 서서히 가하였다. 이때 생성된 백색 침전물을 100 ml 의 물에 용해시켜 Dowex 50 W-X4resin column (직경 2.7 cm, 높이 10 cm) 을 통과시키고 통과하는 액이 중성이 될 때까지 증류수로 세척하였다. 여액을 20 ml 까지 농축시킨 후 ethanol 150 ml 를 가하여 생성된 주생성물은 9.5 g 이었다 (수득율 56%). 이 화합물은 ninhydrin test 에 양성을 나타냈으며 용점은 228°C (문헌 8, 228°C) 이었다. NaOH 용액 (0.0970 N) 으로 적정한 전위차 적정곡선은 Fig. 1 와 같다.

C ₅ H ₉ NO ₃ P	계산치	N 8.28	P 18.32
	실험치	N 8.37	P 18.40
중화당량	계산치	56.3	
	실험치	56.7	

Absorption band (cm ⁻¹)	Assignment
1730	C=O (-CO ₂ H)
2640	O-H (-CO ₂ H)
1450	CH-P
1230	P→O
1210	C-N

N-acetyl-1-aminobutylphosphonic acid. DL-1-aminobutylphosphonic acid 4.6 g (0.03 mole) 을 46 ml 의 초산에 가열 용해시킨 후 무수빙초산 9 g (0.09 mole) 을 가했다. 124°C 에서 10 시간동안 환류시켰으며 초산과 과량의 무수빙초산을

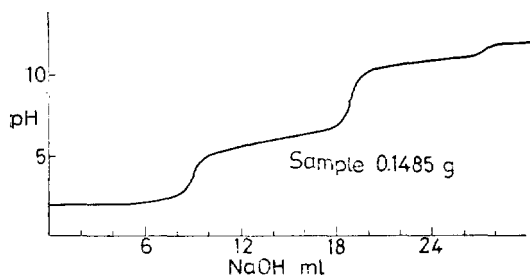


Fig. 1. Titration curve for DL-2-amino-2-carboxyethylphosphonic acid

증발제거시켰다. 이 때 생성된 황색의 고체를 초산으로 재결정시켜 백색결정 3 g(수득율 51%)을 얻었다. 이 화합물은 ninhydrin test에 음성 이었고 용점은 193°C 이었다. NaOH (0.0970 N)에 의한 적정곡선은 Fig. 2와 같다.

$C_8H_{14}NO_4P$	계산치	N 7.18	P 15.87
	실험치	N 7.10	P 15.60
중화당량	계산치	97.5	
	실험치	97.5	

Absorption Band (cm^{-1})	Assignment
1730	>C=O
1460	CH-P
1210	P-O
1000	P-OH
3220	N-H (Str.)
1560	N-H (bending)

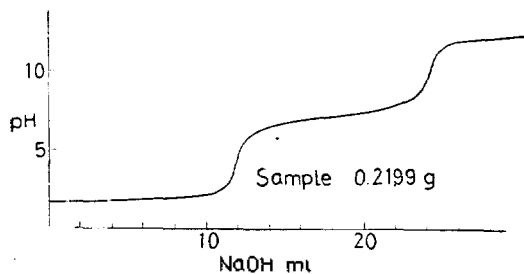


Fig. 2. Titration curve for N-acetyl-1-amino-butylphosphonic acid.

N-Benzoyl-DL-1-aminobutylphosphonic acid. DL-1-aminobutylphosphonic acid 4.6 g을 물 46 ml에 용해시키고 ice bath에서 $-5\sim 0^\circ C$ 로 유

지하였다. 격렬하게 교반하면서 benzoylchloride 11 ml를 2시간 동안에 가했다. 이때 반응액의 pH는 9~10 정도가 유지되도록 2 N-NaOH 용액을 적량씩 가하였다. 반응이 끝난 후 진한 염산을 사용하여 pH를 2~3으로 조절하였다. 반응중 생성된 benzoic acid를 ether 200 ml로 추출하여 버렸다. 물층을 증발, 건조하여 얻은 백색의 고체에 25~30 ml의 무수 ethanol을 가해 용해되지 않는 물질을 제거하였다. 다시 물에 용해하여 Dowex resin column(직경 2.7 cm, 높이 10 cm)을 통과시켜 미량의 Na^+ 을 제거하였다. 감압하에 증발 건조하여 얻은 백색결정을 빙초산으로 재결정하였다. 얻어진 백색결정의 양은 5.7 g(수득율 73%)이었고, ninhydrin test에 음성을 나타냈다. 용점은 192°C이고 NaOH 용액 (0.0970 N)으로 적정한 적정곡선은 Fig. 3과 같다.

$C_{11}H_{16}NO_4P$	계산치	N 5.45	P 12.04
	실험치	N 5.35	P 11.98
중화당량	계산치	128.5	
	실험치	128.5	

Absorption Band (cm^{-1})	Assignment
1470	>CH-P
3270	N-H (stretching)
1520	N-H (bending)
1218	P-O
1622	>C=O

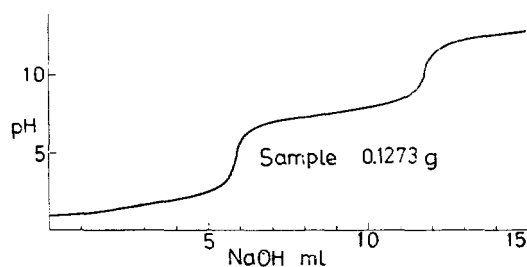


Fig. 3. Titration curve for N-benzoyl-DL-1-aminobutylphosphonic acid.

N-Benzoyl-DL-2-amino-2-carboxyethylphosphonic acid. 이 화합물의 합성은 N-benzoyl-DL-1-aminobutylphosphonic acid의 합성과 마찬가지로

가지 방법으로 KOH 2N NaOH 용액을 사용하여 반응액을 염기성으로 유지시키면서 DL-2-amino-2-carboxyethylphosphonic acid와 benzoyl chloride를 반응시킨 결과 빙초산과 ether에 재결정되는 물질을 얻었다(수득율 8%). 이 백색 결정은 ninhydrin test에 음성이었고 융점은 175°C이었다. NaOH(0.0970 N)로 적정한 적정 곡선은 Fig. 4와 같다.

C ₁₀ H ₁₂ NO ₄ P	계산치	N 5.12	P 11.4
	실험치	N 5.14	P 11.29

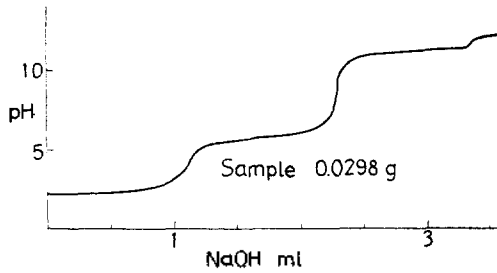


Fig. 4. Titration curve for N-benzoyl-DL-2-amino-2-carboxyethylphosphonic acid

중화당량	계산치	91
	실험치	90

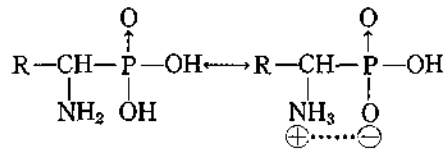
N-p-chlorobenzoyl-2-amino-2-carboxyethylphosphonic acid N-benzoyl-1-aminobutylphosphonic acid의 합성과 동일한 방법으로 DL-2-amino-2-carboxyethylphosphonic acid 3.4g을 p-chlorobenzoyl chloride 11g과 반응시켰다. 빙초산으로 재결정하여 정제한 백색결정 0.6g의 주 생성물을 얻었다. 이 화합물의 융점은 237°C이며 I·R spectrum의 absorption band는 다음과 같다.

C ₁₀ H ₁₂ ClNO ₄ P:	계산치	N 4.55	P 10.07	Cl 11.20
	실험치	N 4.60	P 10.02	Cl 11.20

Absorption band (cm ⁻¹)	Assignment
1680	>C=O (amide)
1482	CH—P
1174	P→O
1010	P—OH
1590	N—H (amide)

3. 결과 및 고찰

DL-1-aminobutylphosphonic acid와 DL-2-amino-2-carboxyethylphosphonic acid는 높은 융점(269°C 및 228°C)을 나타냈다. 이는 두 phosphonic acid가 free amino acid처럼 inner salt를 이루기 때문이다.



이 화합물들의 N-acyl 유도체들 합성에서 N-acetyl-1-aminobutylphosphonic acid는 anhydride법에 따라 무빙초산과 반응시켜 쉽게 합성되었다. N-benzoyl-1-aminobutylphosphonic acid는 Schotten Baumann법에 의해 합성하였다. 그러나 2-amino-2-carboxyethyl phosphonic acid는 무빙초산이나 acetylchloride와 반응하지 않았다 N-benzoyl-2-amino-2-carboxyethyl phosphonic acid 합성에 있어선 NaOH 용액을 사용하여 염기성을 유지하면서 반응시켰을 때 비결정성물질로 생성된 반면에 KOH 용액을 사용했을 경우는 acetic acid-ether에 재결정되는 백색 결정을 얻을 수 있었다. 이는 NaOH와 KOH의 염이 유기물질에 대한 용해도 차이인 것으로 생각된다. benzoyl chloride 대신 반응성이 강한 p-chlorobenzoyl chloride를 사용하여 Schotten Baumann법으로 반응시킨 결과 흰색 결정을 쉽게 얻을 수 있었다. 이러한 N-acyl 유도체들은 모두 ninhydrin test에 음성이며 상술한 바와 같이 I·R spectra 상에서 amide기의 특징을 잘 나타냈다. 융점 또한 free phosphonic acid보다 훨씬 낮은 것으로 나타났는데, 이는 amide기의 생성에 따른 zwitter ion 파괴에 인한 것으로 생각된다^{8,9}.

References

1. M. Horikuchi and M. kandatsu, *Nature*, 184, 901 (1959).
2. J. S. Kittredge, E. Robert and D. G. Simonson, *Biochem.*, 1, 624, (1962).

3. J. S. Kittredge and R. R. Hughes, *Biochem.*, **3**, 991 (1964).
4. J. D. Thayer, H. J. Magnuson and M. S. Gravatt, *Antibiotics and Chemotherapy*, **3**, 256 (1953); *C. A.*, **47**, 10056f (1953).
5. 김숙희, 김용준, 조경남, *한국영양학회지* **2**, No. 4, 173 (1969).
6. (a) Chavane, *Compt. rend.*, **224**, 406 (1947).
(b) Chavane, *Bull. Soc. Chim.*, **27**, 774 (1948)
7. (a) Kosolapoff, *J. Amer. Chem. Soc.*, **69**, 2112 (1947).
(b) Kosolapoff, *ibid.*, **70**, 1283 (1948).
8. J. R. Chambers and A. F. Isbell, *J. Org. Chem.*, **29**, 832 (1964).
9. K. Y. Cho, D. C. Kim. and Y. J. Kim, *J. Korean Chem. Soc.*, **15**, 275 (1971).
10. Roger Adams and C. S. Marvel, *J. Amer. Chem. Soc.*, **42**, 312 (1920).
11. Handbook of Chemistry and Physics, published by the Chemical Rubber Co. (1967).
12. B. Ackerman, R. M. Chaldert and D. Swern, *J. Amer. Chem. Soc.*, **79**, 6524 (1957).
13. J. P. Greenstein and M. Winitz, "Chemistry of the Amino Acid", p. 1697, J. Wiley & Sons,
14. (a) L. J. Bellang and L. Beecher, *J. Chem. Soc.*, 475, (1952).
(b) J. R. Dyer, "Application of Absorption Spectroscopy of Organic Compounds," p. 30. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N. J.,
(c) D. N. Kendall, *Applied Infrared Spectroscopy*, Reinhold Publishing Co. (1966).
15. T. Wieland, G. Ohnacker and W. Zieler, *Ber.*, **90**, 194 (1957).
16. G. M. Kosolapoff, "Organophosphorus Compounds," p. 203 John Wiley & Sons, N. Y., 1958.
17. "The Condensed Chemical Dictionary", 5th. ed. Published by Reinhold Publishing Corporation, 1958.