

# 叶蝉散人工抗原中间产物 2 - 异丙基苯甲酰氯的合成

贲亚琍<sup>1,2</sup>, 陆文昌<sup>3</sup>, 刘德立<sup>2\*</sup>

(1. 江汉大学, 湖北 武汉 430016; 2. 华中师范大学 生命科学学院, 湖北 武汉 430079; 3. 华中师范大学 化学学院, 湖北 武汉 430079)

**摘要:**根据叶蝉散分子结构的特点,对叶蝉散人工抗原的合成进行了3步实验设计,即以叶蝉散为原料,在强碱性(pH > 12)下水解生成2-异丙基苯酚,再加入三光气反应生成活性中间体2-异丙基苯甲酰氯,然后再与6-氨基己酸合成2-苯异丙基-N-(5-羧基戊烷)氨基甲酸酯。此研究成功地进行了2步化学反应,并获得2步化学反应产物:2-异丙基苯酚和2-异丙基苯甲酰氯,从而为叶蝉散多克隆抗体和单克隆抗体的制备提供帮助。

**关键词:**叶蝉散;人工抗原;合成

**中图分类号:** S482.3<sup>+</sup>4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000 - 2286(2010)02 - 0295 - 04

## Synthesis of Intermediate : 2 - Isopropyl Chloride in Artificial Antigen for Isoprocarb

BEN Ya-li<sup>1,2</sup>, LU Wen-chang<sup>3</sup>, LIU De-li<sup>2\*</sup>

(1. Jiangnan University, Wuhan 430016, China; 2. College of Life Science, Central China Normal University, Wuhan 430079, China; 3. College of Chemistry Science, Central China Normal University, Wuhan 430079, China)

**Abstract:** According to the features of the isoprocarb's structure, the artificial antigen of isoprocarb was designed on the three-step chemical reaction. The isoprocarb was hydrolysed and the mid chemical compounds were produced by COCl<sub>2</sub>. The two-step chemical reactions were conducted successfully and their products were obtained through this study. The aim of this study is to offer help for the production of isoprocarb's polyclonal antibody and monoclonal antibody.

**Key words:** isoprocarb; artificial antigen; synthesis

叶蝉散(isoprocarb, IUPAC命名为2-异丙基苯基-N-甲基氨基甲酸酯),学名为异丙威,系氨基甲酸酯类杀虫剂,主要用于防治稻叶蝉、棉叶蝉和稻飞虱等害虫,还可以防治马铃薯甲虫及其它害虫,具有高效低毒的特点<sup>[1]</sup>。叶蝉散的分子式为C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>2</sub>,分子量为193.24,白色晶体,熔点96~97、沸点128~129,不溶于水,易溶于乙醇、丙酮和乙酸乙酯。

近年来,东南亚地区稻飞虱发生仍呈逐年加重趋势,而目前消灭稻飞虱的农药主要是叶蝉散和敌敌畏。敌敌畏属于有机磷类杀虫剂,毒性大,受热易分解放出氧化磷和氯化物毒性气体,对生态环境污染

收稿日期:2009-10-27 修回日期:2010-01-14

基金项目:国家自然科学基金项目(30771429)、教育部博士点基金项目(20060511002)、教育部重点基金项目(106116)和湖北省自然科学基金项目(2006ABA197)

作者简介:贲亚琍(1966-),女,副教授,博士生,主要从事生物化学和分子生物学研究, E-mail: b\_y\_l@jhu.edu.cn;

\*通讯作者:刘德立,男,教授, E-mail: deliliu2002@yahoo.com.cn

严重,因此,防治稻飞虱的农药首选叶蝉散。叶蝉散在工业生产中可由邻异丙基苯酚与甲胺基甲酰氯作用制得,其工业生产流程如图 1。

水稻是我国主要的粮作物,在水稻生产上为了消灭稻飞虱,大量使用叶蝉散后会形成农药残留,对人体健康会造成极大的危害,同时由于没有简单、快速、精准的现场残留分析手段,给水稻的出口经济也带来严重的损失。目前,酶联免疫测定技术(ELISA)已广泛地被应用于粮食、蔬菜和水果农药残留的快速检测中,ELISA的关键步骤就是农药多克隆抗体的制备。有机磷类和氨基甲酸酯类中部分农药的多克隆抗体的制备已见报道,但叶蝉散的人工抗原和多克隆抗体国内外未见报道,因此,合成叶蝉散人工抗原可为制备高效价的叶蝉散多克隆抗体和单克隆抗体奠定基础,此项研究具有重要的意义。

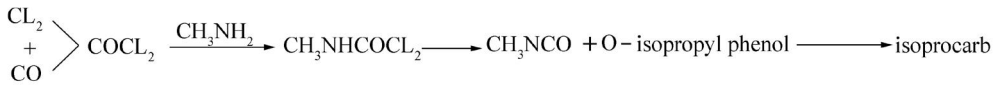


图 1 叶蝉散工业生产路线

Fig 1 Isoprocarb industrial production line

### 1 材料与方 法

#### 1.1 实验材料

叶蝉散(95.8%工业纯品)由湖北沙隆达股份有限公司沙市农药厂提供;红外光谱仪(FT/IR,日本JASCO公司);核磁共振仪(dm x 3000,德国Bruker);三光气由华中师范大学化学学院提供;6-氨基己酸购自上海国药公司;甲苯、无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、氯仿、乙酸乙酯等化学试剂均为分析纯,由华中师范大学化学学院提供。

#### 1.2 实验方法

根据叶蝉散的结构特点,首先以叶蝉散为原料,在强碱性(pH > 12)下水解生成2-异丙基苯酚,再

加入三光气反应生成活性中间体2-异丙基苯甲酰氯,然后再与6-氨基己酸合成2-苯异丙基-N-(5-羧基戊烷)氨基甲酸酯,反应步骤见图2。

##### 1.2.1 叶蝉散碱水解

称取0.08 mol(15.46 g)叶蝉散溶于80 mL无水乙醇,搅拌使之溶解,然后加入4 mol/L NaOH溶液40 mL调节pH至大于12,加热至110 °C回流反应

8 h,冷却至室温,加入2 mol/L稀HCl调节pH值呈酸性,用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>萃取3次(每次80 mL),有机层用盐水洗涤,无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,真空脱溶。

##### 1.2.2 2-异丙基苯甲酰氯的制备

取上述碱解产物85 mmol加入50 mL 2.5 mol/L NaOH溶液,冰浴条件下加入三光气的甲苯溶液(32 mmol溶于50 mL甲苯溶液),滴加完毕后在室温下反应4~5 h,加入乙酸乙酯萃取3次有机层(每次60 mL),用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,柱层析得产品2-异丙基苯甲酰氯。

##### 1.2.3 目标产物的制备

将3.06 g 6-氨基己酸溶于4 mL 4 mol/L NaOH溶液中,然后冰浴至4 °C,称取2.43 g 2-异丙基苯甲酰氯溶于4 mL氯仿并冷却至0 °C,再用6 mL 4 mol/L冷却的NaOH溶液洗涤,将二者均匀分成5份,然后在30 min内分5次依次加入6-氨基己酸溶液中,加完后在冰浴条件下反应2 h,用2 mol/L稀HCl调至pH = 4.0,加乙酸乙酯40 mL萃取有机层3次,无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,真空脱溶。

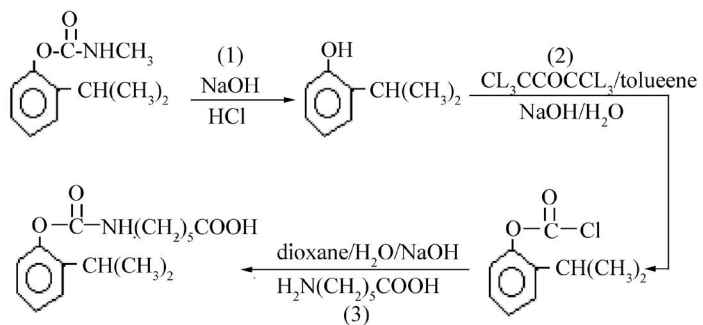


图 2 叶蝉散人工抗原合成路线

Fig 2 Isoprocarb artificial antigen synthesis route

## 2 结果与分析

### 2.1 2-异丙基苯酚的生成鉴定

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 氘代氯仿) (图 3): 7.19 ~ 7.21 (m,  $^1\text{H}$ ), 7.04 ~ 7.08 (m,  $^1\text{H}$ ), 6.89 ~ 6.92 (m,  $^1\text{H}$ ), 6.74 ~ 6.76 (m,  $^1\text{H}$ ), 5.07 (d,  $J = 19.2\text{Hz}$ ,  $^1\text{H}$ ), 3.19 ~ 3.26 (m,  $^1\text{H}$ ), 1.21 ~ 1.29 (m,  $^6\text{H}$ )。叶蝉散碱水解产物的氢谱图表明已经生成了 2-异丙基苯酚。

### 2.2 2-异丙基苯甲酰氯的合成鉴定

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 氘代氯仿) (图 4): 7.33 ~ 7.36 (m,  $^1\text{H}$ ), 7.14 ~ 7.27 (m,  $^3\text{H}$ ), 3.22 ~ 3.26 (m,  $^1\text{H}$ ), 1.24 ~ 1.31 (m,  $^6\text{H}$ )。R (KBr 压片)  $\text{cm}^{-1}$  (图 5): 2900 ~ 2880 (s, - $\text{CH}_3$ ), 2890 ~ 2880 (w, C-H), 3040 ~ 3010 (m, Ar-H), 1790 ~ 1750 (s, 芳香和, -不饱和和), 1750 ~ 1735 (s, C=O, 酯)。红外光谱和氢谱共振表明已经合成了 2-异丙基苯甲酰氯。

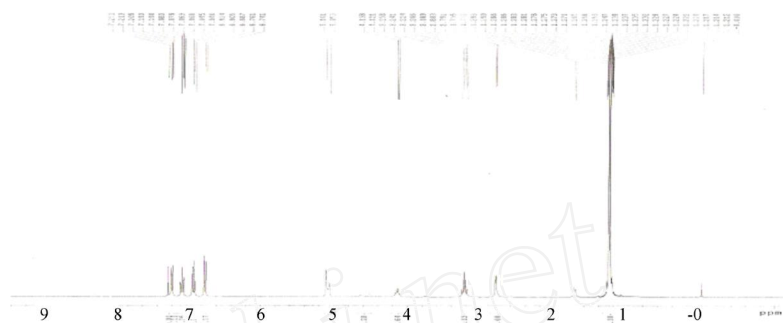


图 3 2-异丙基苯酚  $^1\text{H NMR}$  图谱

Fig 3 2-Isopropyl phenol  $^1\text{H NMR}$  map

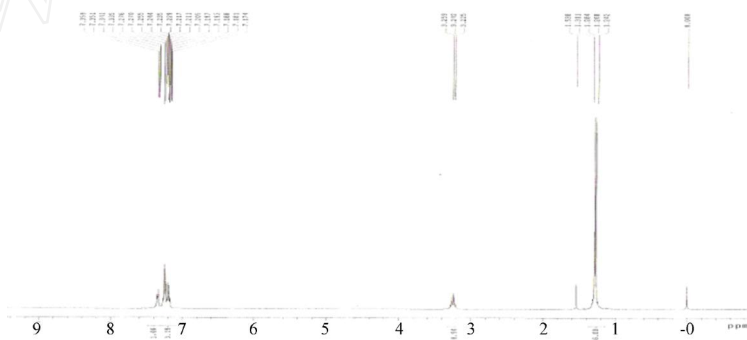


图 4 2-异丙基苯甲酰氯  $^1\text{H NMR}$  图谱

Fig 4 2-isopropyl chloride  $^1\text{H NMR}$  map

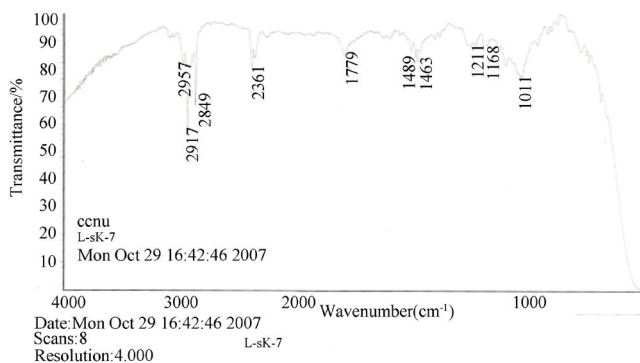


图 5 2-异丙基苯甲酰氯红外光谱扫描图谱

Fig 5 2-isopropyl chloride scan IR map

## 3 讨论

农药残留酶联免疫测定技术 (ELISA) 是免疫分析应用于农药残留分析领域的一门新技术, 主要是依据抗原和抗体之间的特异性识别和结合反应来进行的。特异性抗体的制备是利用免疫学方法进行化学农药残留分析的最关键因素, 而农药多为小分子化合物, 抗体的制备往往很困难, 因此, 农药类似分子改造设计和人工抗原的制备又是抗体制备的关键因素<sup>[2-3]</sup>。氨基甲酸酯类农药西维因人工抗原和多克隆抗体制备已见报导<sup>[4]</sup>, 本实验室也已经制备出呋喃丹人工抗原和高效价的呋喃丹多克隆抗体<sup>[5]</sup>。它们都是采用对硝基苯氯甲酸酯活化萘酚或呋喃酚并与 6-氨基己酸反应合成了完全保留氨基甲酸酯结构的半抗原, 再与 BSA 进行偶联形成人工抗原, 免疫动物从而获得了高效价的多克隆抗体的方法。

叶蝉散和西维因、呋喃丹同属于氨基甲酸酯类农药, 但叶蝉散化学结构中由于苯环上的异丙基与 N-甲基氨基甲酸酯基团是邻位, 如用对硝基苯氯甲酸酯来活化叶蝉散上 N-甲基氨基甲酸酯基团的位阻太大, 故不能采用上述方法制备叶蝉散人工抗原。本次实验按照 Maria J 等人报道的三光气法制备叶

蝉散人工抗原<sup>[6-8]</sup>,成功地按照 3 步实验设计完成了前 2 步化学反应,并获得了前 2 步化学反应产物:2-异丙基苯酚和 2-异丙基苯甲酰氯。但第 3 步化学反应未成功,分析原因有:(1)甲酰氯基团的活性虽然比 N-甲基氨基甲酸酯基团大,但仍然由于异丙基位阻的原因无法与 6-氨基己酸发生化学反应;(2)第 3 步化学反应条件不适宜;(3)第 3 步化学反应用其它的化学物质代替 6-氨基己酸,或不采用活化酯法而是采用其它的方化学反应方法。本文旨在为叶蝉散多克隆抗体和单克隆抗体的制备提供帮助。

参考文献:

[1]潘守奇,孙军,董静,等.气相色谱法测定水果和蔬菜中异丙威、啮霉胺、抑霉唑残留量[J].食品科学,2008,29(12):516-518

[2]Shu TW, Wen J G, Yi R G, et al Preparation of a multi-hapten antigen and broad specificity polyclonal antibodies for a multiple pesticide immunoassay[J]. Analytica Chimica Acta, 2007(587): 287 - 292

[3]Min J K, Hye - Sung L, Duck H C, et al Synthesis of haptens of organophosphorus pesticides and development of enzyme-linked immunosorbent assays for parathion - methyl[J]. Analytica Chimica Acta, 2003(493): 47 - 62

[4]杨耀军,渠桂荣,孟凡涛,等.西维因人工抗原的合成新方法[J].过程工程学报,2005,5(2):201-204

[5]贲亚琍,朱德锐,胡芹芹,等.呋喃丹多克隆抗体的制备与初步应用[J].环境科学研究,2008,21(3):175-179

[6]Moreno M J, A bad A, Montoya A. Prouduction of monoclonal antibodies to the N - methylcarbamate pesticide propoxur[J]. J Agric Food Chem, 2001, 49: 72 - 78

[7]A bad A, Moreno M J, Montoya A. Development of monoclonal antibody - based immunoassays to the N - methylcarbamate pesticide carbofuran[J]. J Agric Food Chem, 1999, 47: 2475 - 2485

[8]Wang T C, Chiou J M, Chang Y L, et al Genotoxicity of propoxur and its N - nitroso derivative in mammalian cells[J]. Carcinogenesis, 1998, 19: 623 - 629

· 简讯 ·

《江西农业大学学报》2009年引证研究报告

据万方数据公布的《中国期刊引证研究报告(2009年版)》显示,《江西农业大学学报》2008年度被引指标和来源指标如下:

期刊被引指标							期刊来源指标					
总被引频次	影响因子	即年指标	引用刊数	他引率	被引半衰期	H指数(CN)	来源文献量	文献选出率	平均引文数	平均作者数	基金论文比	引用半衰期
1565	0.762	0.099	494	0.95	5.50	7	233	1.00	13.09	4.38	1.000	7.85

· 学报编辑部 ·