

赖氨酸化甲胺磷的合成与鉴定

赵肃清¹, 蔡燕飞², 彭维¹, 张焜¹, 黄宝华¹, 孙远明³

(1. 广东工业大学轻工化工学院, 广东 广州 510006; 2. 华南农业大学资源环境学院, 广东 广州 510642; 3. 华南农业大学食品学院, 广东 广州 510642)

摘要: 甲胺磷是一种高效剧毒有机磷农药, 为了建立其免疫快速分析方法, 合成赖氨酸化甲胺磷中间体是制备高质量甲胺磷人工抗原、抗甲胺磷抗体的前提。用 *O*, *S*-二甲基硫代磷酰氯与赖氨酸直接反应, 通过元素分析、红外光谱和质谱方法对赖氨酸化甲胺磷进行鉴定。

关键词: *O*, *S*-二甲基硫代磷酰氯; 赖氨酸; 甲胺磷

中图分类号: TQ426

文献标识码: A

文章编号: 0253-4320(2006)09-0038-03

Synthesis and identification of *O*, *S*-dimethylphosphoryl lysine

ZHAO Su-qing¹, CAI Yan-fei², PENG Wei¹, ZHANG Kun¹, HUANG Bao-hua¹, SUN Yuan-ming³

(1. Faculty of Chemical Engineering and Light Industry, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006 China;

2. College of Resource and Environment, South China University of Agriculture, Guangzhou 510642, China;

3. College of Food, South China University of Agriculture, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Methamidophos (*O*, *S*-dimethylphosphor-amidothiolate, Met) is an efficient and virulent organophosphorus pesticide. In order to establish immunoassay methods of Met residue, firstly it is necessary to synthesize *O*, *S*-dimethylphosphoryl lysine for preparing artificial antigen and obtaining high titer and specific antibodies of anti-Met. In this paper *O*, *S*-dimethylphosphor chlorothiolate and lysine was used to synthesize *O*, *S*-dimethylphosphoryl lysine, and the product was identified by IR spectrum, element analysis and mass spectrum.

Key words: *O*, *S*-Dimethylphosphoryllysine; lysine; methamidophos

甲胺磷(Met 即 *O*, *S*-二甲基硫代磷酰胺, 又名多灭磷), 是一种高效的杀虫和杀螨剂, 由于对人和动物有很大的毒性(小白鼠急性经口 LD₅₀ 是 30 mg/kg)。由于甲胺磷的高效和低价, 导致蔬菜中甲胺磷残留超标和中毒事件频繁发生^[1-2]。为了防止甲胺磷中毒事件的发生, 我国各地出台禁止甲胺磷在蔬菜中使用的规定, 并主张以低毒的乙酰甲胺磷代替甲胺磷使用。然而国外有研究表明乙酰甲胺磷代谢后产生的甲胺磷残留在植物体内往往超过规定的甲胺磷最高残留限, 造成对地下水和土壤的污染, 而且时常发生中毒事件^[3-5], 因此对甲胺磷的检测分析极其重要。常规的甲胺磷仪器分析方法需要大型仪器设备和烦琐的前处理^[6], 近年来甲胺磷的免疫分析方法备受重视, 有较多的研究报道^[7-10]。但甲胺磷分子内的氨基与烷基碳上的伯氨基相比活性明显降低, 笔者发现很难直接用甲胺磷分子的氨基与蛋白质上的羧基偶联制备人工抗原, 而通过将甲

胺磷与赖氨酸偶联后, 赖氨酸化的甲胺磷分子上具有甲胺磷分子的结构, 该分子上的羧基很容易与蛋白质偶联。国内外未见赖氨酸化甲胺磷中间体制备的报道, 本文合成方法对于建立甲胺磷的免疫分析方法具有实际意义。

1 材料与方法

1.1 实验材料与仪器

O, *S*-二甲基硫代磷酰氯, 纯度 ≥ 95%, 沈阳化工研究院; 赖氨酸, 分析纯, 上海伯奥生物技术有限公司。其他试剂均为市售分析纯。

RFX-65A 傅里叶变换红外光谱仪, 日本岛津公司; Vario EL 元素分析仪, 德国 Elementar 公司; QP5050 质谱仪, 日本岛津公司。

1.2 实验方法

1.2.1 赖氨酸化甲胺磷的合成

将 5.84 g 右旋赖氨酸置入一个 100 mL 烧杯中,

收稿日期: 2006-06-25

基金项目: 教育部留学回国人员科研启动项目; 广东省自然科学基金(5001814)资助项目

作者简介: 赵肃清(1969-), 男, 博士, 研究员, 主要从事小分子有毒化合物的人工抗原合成和免疫分析方法研究, 020-31956092, suqingzhao@yahoo.com.cn。

加入 10 mL 双蒸水和 10 mL 95% 的乙醇,用 2 mol/L 的 NaOH 调 pH 到 10.0,冰浴下磁力搅拌 30 min;逐滴加入 40 mL 用氯仿 3 倍稀释的 *O,S*-二甲基硫代磷酰氯,冰浴磁力搅拌继续反应 1 h,取黄色水层于分液漏斗中,并逐步用 6 mol/L 的 HCl 调 pH 为 4.0,加入 30 mL 乙酸乙酯,振摇 5 min,并不时排气,静置 30 min 后,取乙酸乙酯层放入一个干净干燥的空瓶内,然后常温真空干燥,让乙酸乙酯彻底挥发尽后,盖上瓶盖,密封备用。

1.2.2 赖氨酸化甲胺磷的鉴定

元素分析按 Vario EL 元素分析仪的操作规程进行,结果为(% ,括号内为理论值):C 30.44(30.46), H 6.30(6.30), N 7.20(7.11)。

红外光谱的测定:取上述中间体少许置于一陶瓷研钵内,加入溴化钾后一起研磨均匀,制成薄片后,进行红外光谱扫描。

质谱分析操作条件为:EI 源,70eV。

2 结果与分析

2.1 红外光谱

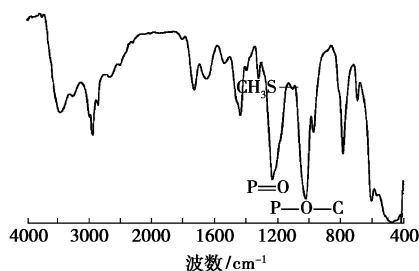


图 1 *O,S*-二甲基硫代磷酰化赖氨酸 IR 光谱图

O,S-二甲基硫代磷酰化赖氨酸中间体的红外光谱如图 1。与沈阳化工研究院测定的纯品甲胺磷^[11]对照,合成产物的红外光谱具有与甲胺磷标准品一样的 P—O—C、P=O 和 CH₃S—吸收峰,说明合成的产物上具有类似甲胺磷的结构,而该物质是乙酸乙酯的萃取产物,因此该物质不可能是甲胺磷或赖氨酸,只能为磷酰化的赖氨酸。

2.2 质谱分析

O,S-二甲基硫代磷酰化赖氨酸少许直接进样进行质谱分析,质谱测定结果如图 2。

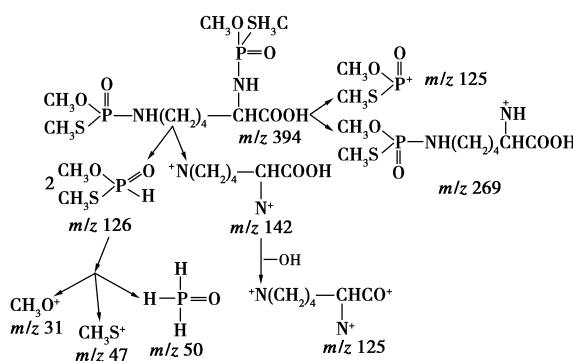
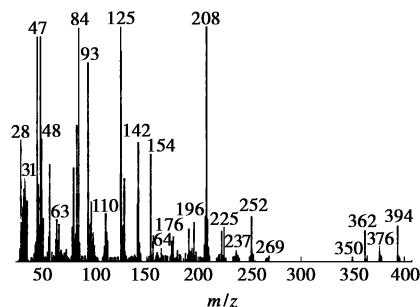


图 2 *O,S*-二甲基硫代磷酰化赖氨酸质谱图

(上接第 37 页)

- [7] Greatrex B W, Taylor D K. Ring-opening of unsymmetrical 1,2-dioxines using cobalt(II) salen complexes[J]. J Org Chem, 2005, 70(2): 470 - 476.
- [8] Greatrex B W, Jenkins N F, Taylor D K, et al. Base- and Co(II)-catalyzed ring-opening reactions of perhydrooxireno[2,3-d][1,2] dioxines: An efficient route to 4-hydroxy-2,3-epoxy-ketones[J]. J Org Chem, 2003, 68(13): 5205 - 5210.
- [9] Uchida T, Saha B, Katsuki T. Co(II)-salen-catalyzed asymmetric intramolecular cyclopropanation[J]. Tetrahedron Letters, 2001, 42(13): 2521 - 2524.
- [10] Niimi T, Uchida T, Katsuki T, et al. Co(II)-salen-catalyzed highly cis- and enantioselective cyclopropanation[J]. Tetrahedron Letters, 2000, 41(19): 3647 - 3651.
- [11] 刘志昌, 谢明秀, 张元勤, 等. 金属(Ni、Co、Zn)-Salen 配合物的合成及性质研究[J]. 乐山师范学院学报, 2002, 17(4): 30 - 33.
- [12] Tafesh A M, Weiguny J A. Review of the selective catalytic reduction of

- aromatic nitro compounds into aromatic amines, isocyanates, carbamates, and ureas using CO[J]. Chem Rev, 1996, 96(6): 2035 - 2052.
- [13] Welbes L L, Borovik A S. Confinement of metal complexes within porous hosts: development of functional materials for gas binding and catalysis[J]. Accounts of Chemical Research, 2005, 38(10): 765 - 774.
- [14] Jae S O, Chul W L, Jae S L, et al. Palladium-catalyzed synthesis of *N,N'*-diphenylurea from nitrobenzene, aniline, and carbon monoxide[J]. Ind Eng Chem Res, 1991, 30(7): 1456 - 1461.
- [15] Van Leeuwen P W N M, Wehman P, Borst L, et al. Influence of an aromatic carboxylic acid as cocatalyst in the palladium-catalyzed reductive carbonylation of aromatic nitro compounds[J]. J Mol Catal A: Chemical, 1996, 112(1): 23 - 26.
- [16] Mukherjee D K, Saha C R. Soluble and polymer-anchored rhodium catalyst for carbonylation reaction: Kinetics and mechanism of diphenylurea formation[J]. J of Catal, 2002, 210(2): 255 - 262.
- [17] Mukherjee D K, Saha C R. Reusable polymer-anchored catalyst for carbonylation reaction: kinetics and mechanism for diphenylurea formation[J]. J Mol Catal A: Chemical, 2003, 193(1): 41 - 50. ■

从图 2 可以看出,该样品相对分子质量为 394,与 *O,S*-二甲基硫代磷酰化赖氨酸中间体的分子量一致,并具有 269、125、50、47 和 31 等中间体裂解时的碎片峰,进一步说明该物质合成成功,质谱裂解过程如图 2。

O,S-二甲基硫代磷酰化赖氨酸合成成功的关键是选择了甲胺磷合成过程中的前体物 *O,S*-二甲基硫代磷酰氯,利用了酰氯化物的活泼性。合成的 *O,S*-二甲基硫代磷酰化赖氨酸的意义是一方面可利用该化合物分子上的羧基通过双功能交联试剂,如碳二亚胺与蛋白质上的氨基偶联,从而制备高质量的甲胺磷人工抗原^[9],笔者最后首次获得抗甲胺磷的单克隆抗体^[12],另一方面,禁止甲胺磷农药的使用已是必然趋势,必须加速发展替代品种,而合成的 *O,S*-二甲基硫代磷酰化赖氨酸可用于进一步毒理和降解性研究,有可能作为甲胺磷农药的替代物,因为氨基酸类农药具有毒性低、高效、无公害、易被生物降解利用等特点。

参考文献

- [1] 王一茹.应重视和支持食品中农药残留检测[J].农业与环境发展,1996,13(1):22-25.
[2] 徐浩,李康,王强,等.上市蔬菜甲胺磷残留监测.[J].浙江农业

- 学报,2000,12(6):404-406.
[3] Sanz-Asensio J, Martinez-Prado A P, Plaza-Medina M, et al. Behaviour of acephate and its metabolite methamidophos in apple samples[J]. Chromatographia, 1999, 49(3/4): 155-160.
[4] Cabras p, Angioni A, Garau V L, et al. Acephate and buprofezin (methamidophos) residues in olives and olive oil[J]. Food Additives Contaminants, 2000, 17(10): 855-858.
[5] St-Amand A D, Girard L. Determination of acephate and its degradation product methamidophos in soil and water by solid-phase extraction (SPE) and GC-MS[J]. International Journal of Environmental and Analytical Chemistry, 2004, 84(10): 739-748.
[6] Mol H G, van Dam R C, Steijger O M. Determination of polar organophosphorus pesticides in vegetables and fruits using liquid chromatography with tandem mass spectrometry: selection of extraction solvent[J]. J Chromatogr A, 2003, 1015(1/2): 119-27.
[7] 刘凤权,许金刚,王金生.定量测定甲胺磷残留的间接竞争 ELISA 的建立和初步应用[J].农业生物技术学报,1998,6(2): 140-146.
[8] 董国伟,刘贤进,王沫,等.间接竞争性 ELISA 检测甲胺磷残留[J].华中农业大学学报,2001,20(5):434-437.
[9] 赵肃清,蔡燕飞,雷红涛,等.甲胺磷人工抗原的光谱学鉴定研究[J].光谱学与光谱分析,2004,24(2):207.
[10] 苗玉奎,黄昆仑,郭晶,等.一种快速检测甲胺磷的方法[J].安全与环境学报,2005,5(2):40-42.
[11] 沈阳化工研究院.新有机磷杀虫剂多灭磷研究报告[J].农药,1973,28(2):1-25.
[12] 赵肃清,孙远明,张春艳.甲胺磷单克隆抗体制备与鉴定研究[J].免疫学杂志,2003,19(2):142. ■

陶氏收购日本旭化成持有的聚苯乙烯合资企业股权

美国陶氏化学(Dow Chemical)公司(“陶氏”)与旭化成化学株式会社(Asahi Kasei Chemicals Corporation)(“Asahi”)于 2006 年 8 月 8 日在新加坡宣布双方达成协议,由陶氏收购 Asahi 持有香港的斯泰隆亚洲有限公司(“SAL HK”)以及斯泰隆石化(张家港)有限公司(“SAL ZJG”)的所有股权。在获得政府批准后,陶氏将全资拥有 SAL HK 和 SAL ZJG。

斯泰隆亚洲有限公司是陶氏和 Asahi 各持 50% 股权的合资企业, SAL ZJG 生产 STYRON 聚苯乙烯树脂和 STYRON A-TECH 高科技聚苯乙烯树脂,由 SAL HK 负责产品销售。陶氏将直接收购由 Asahi 持有的 SAL HK 的 50% 股权,并间接收购由 Asahi 持有的 SAL ZJG 的 50% 股权,未透露收购价格。陶氏和 Asahi 正在办理相应手续,向中国政府

申请关于 SAL ZJG 股权转让的批准,以及在香港办理 SAL HK 所有权变更的注册。

SAL HK 和 SAL ZJG 的业务如常进行以保证交接顺利完成,并将采取一切措施确保所有客户与 SAL HK 和 SAL ZJG 的交易往来继续顺利进行。SAL HK 和 SAL ZJG 的股权转让是陶氏和 Asahi 的共同协议,藉以配合陶氏和 Asahi 的战略发展,双方仍继续保持紧密的工作关系。此项收购与陶氏致力评估公司合资企业的方向一致,以保证这些企业配合陶氏的整体经营战略。这次收购是陶氏多层次战略的一部分,目的在于为亚洲区的聚苯乙烯业务注入新的动力,以求在竞争日趋激烈的市场保持业务长期成功。(童)