



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109970674 A

(43)申请公布日 2019.07.05

(21)申请号 201910233073.8

(22)申请日 2019.03.26

(71)申请人 深圳市易瑞生物技术股份有限公司
地址 518102 广东省深圳市宝安区新安街道留仙一路2-1号易瑞生物园

(72)发明人 付辉 杨星星 李细清 王伟维
杨林林 曾文涛 王西丽 金虹
张鑫 曾楚怡

(74)专利代理机构 广州粤高专利商标代理有限公司 44102

代理人 许青华 廖苑滨

(51)Int.Cl.

C07D 263/14(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

权利要求书2页 说明书8页 附图1页

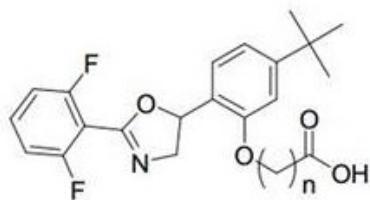
(54)发明名称

一种乙螨唑半抗原及其合成方法和应用

(57)摘要

本发明公开了一种乙螨唑半抗原及其合成方法和应用,以2,6-二氟苯甲酰胺、2-氯乙醛缩二甲醇为起始原料合成中间体1;3-叔丁基苯酚与化合物1在碱性条件下反应生成中间体2;中间体1和中间体2发生反应生成中间体3;中间体3在强碱的作用下发生分子内部缩合反应生成中间体4;中间体4通过氧化生成最终目标物。本发明中,在乙螨唑的苯醚结构上衍生连接臂,衍生的连接臂带有羧基,合成的乙螨唑半抗原既最大程度保留了乙螨唑的特征结构,使得乙螨唑半抗原的免疫原性明显增强,又具有可以与载体发生偶联的羧基;乙螨唑半抗原与载体偶联后得到的乙螨唑人工抗原去免疫动物,更有利于刺激动物免疫应答产生特异性更强、灵敏度更高的抗体。

1. 一种乙螨唑半抗原，其特征在于，其结构式如式(I)所示：

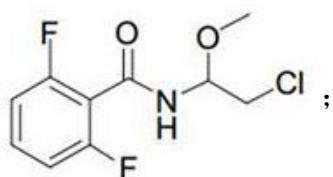


(I)

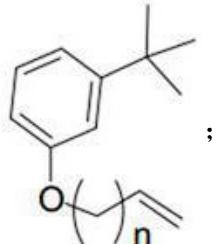
其中，n为-CH₂基团数目，n为1-5的整数。

2. 如权利要求1所述的乙螨唑半抗原的合成方法，其特征在于，其包括如下步骤：

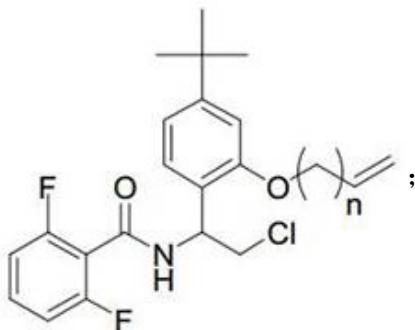
S1，提供中间体1，所述中间体1具有结构式



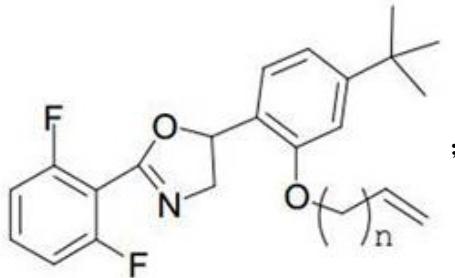
S2，提供中间体2，所述中间体2具有结构式



S3，将所述中间体1和中间体2进行反应，得到中间体3，所述中间体3具有结构式



S4，将所述中间体3进行缩合反应，得到中间体4，所述中间体4具有结构式



S5，将所述中间体4进行氧化反应，得到所述乙螨唑半抗原。

3. 如权利要求2所述的乙螨唑半抗原的合成方法，其特征在于，所述步骤S1中，所述中

间体1的制备方法为：在反应容器中加入2,6-二氟苯甲酰胺和2-氯乙醛缩二甲醇，在冰水浴条件下搅拌，随后将浓硫酸缓慢滴加入其中，滴加完毕后室温下反应，反应完毕后，进行分离纯化，得到所述中间体1；其中，所述2,6-二氟苯甲酰胺、2-氯乙醛缩二甲醇和浓硫酸的物质的量之比为1:(1.2-2):(10-20)。

4. 如权利要求2所述的乙螨唑半抗原的合成方法，其特征在于，所述步骤S2中，所述中间体2的制备方法为：提供化合物1，所述化合物1具有结构式 ，其中X为卤素；向反应容器中加入3-叔丁基苯酚、碳酸钾和DMF，搅拌均匀后加入化合物1，油浴反应，油浴反应完毕后，反应混合物冷却至室温，将反应混合物浓缩、纯化，即得所述中间体2；其中，所述3-叔丁基苯酚、化合物1和碳酸钾的物质的量之比为1:(1.2-5):(2-10)；油浴反应的温度为50-110℃。

5. 如权利要求2所述的乙螨唑半抗原的合成方法，其特征在于，所述步骤S3包括如下步骤：将无水三氯化铝和二氯甲烷加入反应器中，并在冰水浴下搅拌溶解；将中间体1和中间体2溶于二氯甲烷后，缓慢滴加到所述反应器中，滴加时间0.5-1h，滴加完毕后加热回流反应，反应结束后，将反应液冷却至室温；将反应液缓慢倒入冰水中，充分搅拌，然后用二氯甲烷萃取，收集有机相，有机相经洗涤、干燥、浓缩得到中间体3。

6. 如权利要求5所述的乙螨唑半抗原的合成方法，其特征在于，所述中间体1、中间体2和无水三氯化铝的物质的量之比为1:(1.2-2):(1-3)。

7. 如权利要求2所述的乙螨唑半抗原的合成方法，其特征在于，所述步骤S4包括如下步骤：向反应容器中加入中间体3、浓碱溶液和甲醇，油浴反应，反应完毕后，蒸干甲醇，加水后用乙酸乙酯萃取，经水洗、干燥、浓缩、过柱纯化后得中间体4；其中，油浴反应的温度为40-80℃；所述浓碱溶液选自饱和氢氧化钠溶液、饱和氢氧化钾溶液、饱和氢氧化锂溶液中的一种或多种。

8. 如权利要求2所述的乙螨唑半抗原的合成方法，其特征在于，所述步骤S5包括如下步骤：向反应容器中加入中间体4、高碘酸盐、三氯化钌和混合溶剂，油浴反应，反应结束后将反应液冷却后浓缩，加水稀释，用乙酸乙酯萃取，收集有机相，有机相经干燥、浓缩、过柱纯化得到所述乙螨唑半抗原。

9. 如权利要求8所述的乙螨唑半抗原的合成方法，其特征在于，所述中间体4、高碘酸盐、三氯化钌的物质的量之比为1:(3-8):(0.05-0.2)；所述高碘酸盐为高碘酸钾或高碘酸钠；所述混合溶剂由四氯化碳、乙腈和蒸馏水组成，其中，所述四氯化碳、乙腈和蒸馏水的体积比为(1-5):(1-5):(1.5-7.5)；油浴反应的温度为50-70℃。

10. 乙螨唑半抗原在乙螨唑免疫检测分析中的应用，其特征在于，所述乙螨唑半抗原采用权利要求1所述的乙螨唑半抗原。

一种乙螨唑半抗原及其合成方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及食品安全检测技术领域,特别是涉及了一种乙螨唑半抗原及其合成方法和应用。

背景技术

[0002] 乙螨唑(Etoxazole)是由日本八洲化学工业株式会社发现,并与日本住友化学共同开发的一类新型杀螨剂,属于二苯基恶唑啉衍生物,抑制螨卵的胚胎形成以及从幼螨到成螨的蜕皮过程,对卵及幼螨有效。乙螨唑主要防治柑橘叶螨、梨叶螨、二斑叶螨、神泽氏叶螨和苹果全爪螨等主要螨类。该产品属于内吸性杀螨剂,对螨卵、幼虫、若虫有效,但对成虫无效。杀螨活性明显高于其他杀螨剂,如活性比噻螨酮高100倍左右。通过抑制昆虫体内几丁质的生物合成,对产生抗性的螨类同样具有很高的活性,有效时间长,可以使螨类一个多月不能繁殖。中国目前只制定了乙螨唑在柑橘上的MRL值为0.5 mg/kg ,暂未制定乙螨唑在其它农产品如枸杞上的MRL值。关于乙螨唑残留的检测方法及消解动态国内外已进行相关研究,但是针对其它农产品中乙螨唑的检测方法还未见报道。因此就产生了农户在施药过程中只讲效果不在乎农产品的药物残留问题,导致出口的农产品时常会有农残超标的情况。

[0003] 现有的乙螨唑的检测方法主要有高效液相色谱法(HPLC)、液相-质谱联用(LC-MS)法、气相色谱-质谱联用法(GC-MS)等。上述检测方法中所用仪器设备操作复杂、成本高、对操作人员技术要求高,且不能立即显示结果,不适用于食品、商检、防疫、畜牧生产者对怀疑对象进行快速的在线检测和监控。

[0004] 与上述检测方法相比,免疫学检测技术具有经济、快速、技术要点低、操作简便且可实现现场检测等有点。免疫分析检测技术是近年来在环境及食品检测等领域开发出来的一种新型快速准确检测方法,现已逐渐成为世界各国有毒有害残留物快速筛选检测的主要方法之一。

[0005] 在建立免疫学检测方法并应用该检测方法检测乙螨唑残留量时,关键技术在于能够获取到特异性强、灵敏度高的抗体,而要实现这一目标,前提条件就是得合成、制备出合适的乙螨唑半抗原。但是,目前,国内还没有针对乙螨唑半抗原的相关报道。

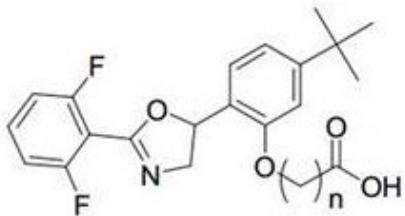
[0006]

发明内容

[0007] 为了弥补已有技术的缺陷,本发明提供一种乙螨唑半抗原及其合成方法和应用,针对乙螨唑的结构特点设计出一种乙螨唑半抗原的合成方法,合成乙螨唑半抗原,用于进一步合成乙螨唑人工抗原,诱导免疫动物产生抗体,从而建立乙螨唑各种免疫分析方法。

[0008] 本发明所要解决的技术问题通过以下技术方案予以实现:

一种乙螨唑半抗原,其特征在于,其结构式如式(I)所示:

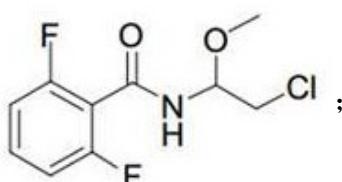


(I)

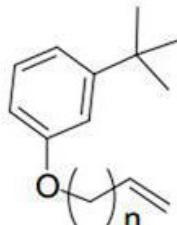
其中,n为-CH₂基团数目,n为1-5的整数。

[0009] 本发明还提供上述乙螨唑半抗原的合成方法,包括如下步骤:

S1,提供中间体1,所述中间体1具有结构式

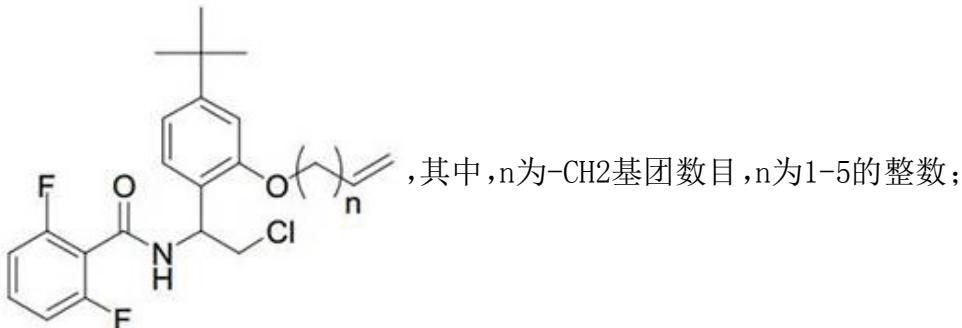


S2,提供中间体2,所述中间体2具有结构式

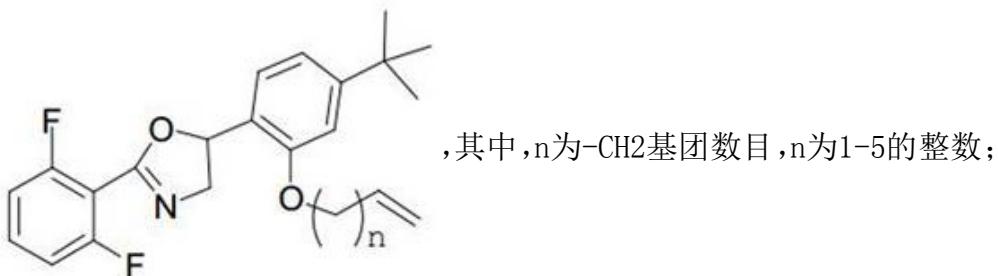


1-5的整数;

S3,将所述中间体1和中间体2进行反应,得到中间体3,所述中间体3具有结构式



S4,将所述中间体3进行缩合反应,得到中间体4,所述中间体4具有结构式



S5,将所述中间体4进行氧化反应,得到所述乙螨唑半抗原。

[0010] 进一步地,所述步骤S1中,所述中间体1的制备方法为:

在反应容器中加入2,6-二氟苯甲酰胺和2-氯乙醛缩二甲醇,在冰水浴条件下搅拌,随后将浓硫酸缓慢滴加入其中,滴加完毕后室温下反应,反应完毕后,进行分离纯化,得到所述中间体1;其中,所述2,6-二氟苯甲酰胺、2-氯乙醛缩二甲醇和浓硫酸的物质的量之比为1:(1.2-2):(10-20);所述分离纯化操作为:将反应液倒入冰水中,充分搅拌,用乙酸乙酯进行萃取,收集有机相,有机相经洗涤、浓缩后过柱纯化得到中间体1。

[0011] 进一步地,所述步骤S2中,所述中间体2的制备方法为:

提供化合物1,所述化合物1具有结构式

[0012] 进一步地,所述步骤S3包括如下步骤:将无水三氯化铝和二氯甲烷加入反应器中,并在冰水浴下搅拌溶解;将中间体1和中间体2溶于二氯甲烷后,缓慢滴加到所述反应器中,滴加时间0.5-1h,滴加完毕后加热回流反应,反应结束后,将反应液冷却至室温;将反应液缓慢倒入冰水中,充分搅拌,然后用二氯甲烷萃取,收集有机相,有机相经洗涤、干燥、浓缩得到中间体3。

[0013] 进一步地,所述中间体1、中间体2和无水三氯化铝的物质的量之比为1:(1.2-2):(1-3)。

[0014] 进一步地,所述步骤S4包括如下步骤:向反应容器中加入中间体3、浓碱溶液和甲醇,油浴反应,反应完毕后,蒸干甲醇,加水后用乙酸乙酯萃取,经水洗、干燥、浓缩、过柱纯化后得中间体4;其中,油浴反应的温度为40-80℃;所述浓碱溶液选自饱和氢氧化钠溶液、饱和氢氧化钾溶液、饱和氢氧化锂溶液中的一种或多种。

[0015] 进一步地,所述步骤S5包括如下步骤:向反应容器中加入中间体4、高碘酸盐、三氯化钌和混合溶剂,油浴反应,反应结束后将反应液冷却后浓缩,加水稀释,用乙酸乙酯萃取,收集有机相,有机相经干燥、浓缩、过柱纯化得到所述乙螨唑半抗原。

[0016] 进一步地,所述中间体4、高碘酸盐、三氯化钌的物质的量之比为1:(3-8):(0.05-0.2);所述高碘酸盐为高碘酸钾或高碘酸钠;所述混合溶剂由四氯化碳、乙腈和蒸馏水组成,其中,所述四氯化碳、乙腈和蒸馏水的体积比为(1-5):(1-5):(1.5-7.5);油浴反应的温度为50-70℃。

[0017] 本发明还提供上述乙螨唑半抗原在乙螨唑免疫检测分析中的应用。

[0018] 本发明具有如下有益效果:

本发明中,在乙螨唑的苯醚结构上衍生连接臂,衍生的连接臂带有羧基,合成的乙螨唑半抗原既最大程度保留了乙螨唑的特征结构,使得乙螨唑半抗原的免疫原性明显增强,又具有可以与载体发生偶联的羧基;乙螨唑半抗原与载体偶联后得到的乙螨唑人工抗原去免疫动物,更有利于刺激动物免疫应答产生特异性更强、灵敏度更高的抗体,为后续建立乙螨唑的各种免疫分析方法提供基础。

[0019] 本发明中乙螨唑半抗原的合成方法,使用的原料易得,反应操作较为简单,反应条件易于控制。本发明的乙螨唑半抗原合成方法,乙螨唑半抗原的纯度和收率高,整体的合成

成本更具优势。

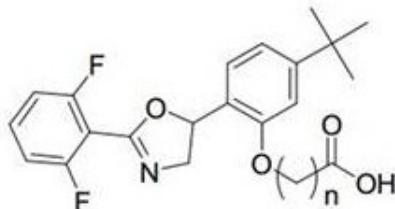
[0020]

附图说明

[0021] 图1为本发明乙螨唑半抗原的合成路线。

具体实施方式

[0022] 第一方面,本发明提供一种乙螨唑半抗原,其特征在于,其结构式如式(I)所示:



(I)

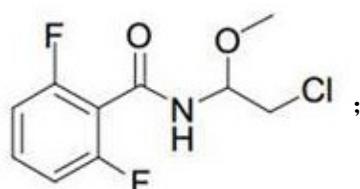
其中,n为-CH₂基团数目,n为1-5的整数。

[0023] 本发明中,在乙螨唑的苯醚结构上衍生连接臂,衍生的连接臂带有羧基,合成的乙螨唑半抗原既最大程度保留了乙螨唑的特征结构,使得乙螨唑半抗原的免疫原性明显增强,又具有可以与载体发生偶联的羧基;乙螨唑半抗原与载体偶联后得到的乙螨唑人工抗原去免疫动物,更有利于刺激动物免疫应答产生特异性更强、灵敏度更高的抗体,为后续建立乙螨唑的各种免疫分析方法提供基础。

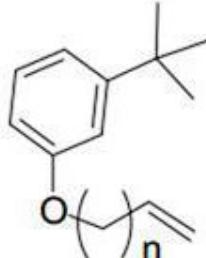
[0024] 本发明的乙螨唑半抗原,不仅合成方法简便、纯度较高,而且能应用于合成适于动物免疫的抗原体系,弥补了国内乙螨唑免疫学检测方法技术领域的空白,为乙螨唑免疫检测方法的进一步发展奠定了基础。

[0025] 第二方面,本发明还提供上述乙螨唑半抗原的合成方法,包括如下步骤:

S1,提供中间体1,所述中间体1具有结构式



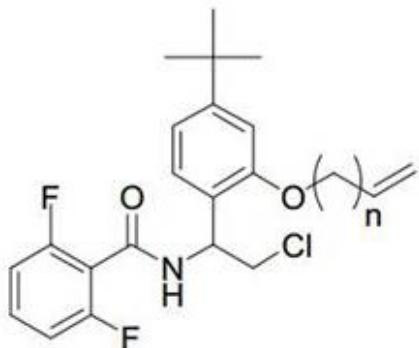
S2,提供中间体2,所述中间体2具有结构式



,其中,n为-CH₂基团数目,n

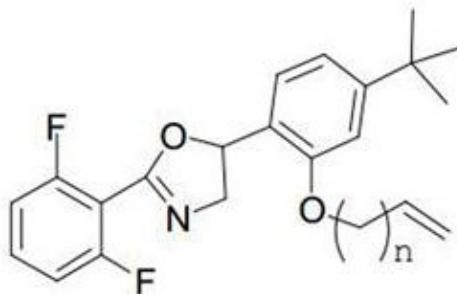
为1-5的整数;

S3,将所述中间体1和中间体2进行反应,得到中间体3,所述中间体3具有结构式



,其中,n为-CH₂基团数目,n为1-5的整数;

S4,将所述中间体3进行缩合反应,得到中间体4,所述中间体4具有结构式



,其中,n为-CH₂基团数目,n为1-5的整数;

S5,将所述中间体4进行氧化反应,得到所述乙螨唑半抗原。

[0026] 本发明根据乙螨唑的结构特点,合理设计乙螨唑半抗原的合成方法,使用的原料易得,反应操作较为简单,反应条件易于控制。本发明的乙螨唑半抗原合成方法,乙螨唑半抗原的纯度和收率高,整体的合成成本更具优势。

[0027] 其中,所述步骤S1中,所述中间体1的制备方法为:

在反应容器中加入2,6-二氟苯甲酰胺和2-氯乙醛缩二甲醇,在冰水浴条件下搅拌,随后将浓硫酸缓慢滴加入其中,滴加完毕后室温下反应,反应完毕后,进行分离纯化,得到所述中间体1。其中,所述2,6-二氟苯甲酰胺、2-氯乙醛缩二甲醇和浓硫酸的物质的量之比为1:(1.2-2):(10-20),更优选地,所述2,6-二氟苯甲酰胺、2-氯乙醛缩二甲醇和浓硫酸的物质的量之比为1:1.5:15;将各原料用量控制在上述范围内,一方面有利于进一步提高中间体的产率,一方面有利于避免原料过度浪费。所述分离纯化操作优选为:将反应液倒入冰水中,充分搅拌,用乙酸乙酯进行萃取,收集有机相,有机相经洗涤、浓缩后过柱纯化得到中间体1。采用上述分离纯化操作,不仅操作简单,而且中间体1的纯度高。

[0028] 优选地,所述步骤S2中,所述中间体2的制备方法为:

提供化合物1,所述化合物1具有结构式 ,其中X为卤素, n为-CH₂基团数

目,n为1-5的整数;向反应容器中加入3-叔丁基苯酚、碳酸钾和DMF,搅拌均匀后加入化合物1,油浴反应,油浴反应完毕后,反应混合物冷却至室温,将反应混合物浓缩、纯化,即得所述中间体2。其中,化合物1优选为6-溴-1-己烯、3-溴-1-丙烯、4-溴-1-丁烯;所述3-叔丁基苯酚、化合物1和碳酸钾的物质的量之比为1:(1.2-5):(2-10),更优选地,所述3-叔丁基苯酚、化合物1和碳酸钾的物质的量之比为1:1.5:3;将各原料用量控制在上述范围内,一方面有利于进一步提高中间体2的产率,一方面有利于避免原料过度浪费。油浴反应的温度为50-110℃,更优选地,油浴反应的温度为80℃。

[0029] 所述步骤S3包括如下步骤：将无水三氯化铝和二氯甲烷加入反应器中，并在冰水浴下搅拌溶解；将中间体1和中间体2溶于二氯甲烷后，缓慢滴加到所述反应器中，滴加时间0.5-1h，滴加完毕后加热回流反应，反应结束后，将反应液冷却至室温；将反应液缓慢倒入冰水中，充分搅拌，然后用二氯甲烷萃取，收集有机相，有机相经洗涤、干燥、浓缩得到中间体3。

[0030] 其中，所述中间体1、中间体2和无水三氯化铝的物质的量之比为1:(1.2-2):(1-3)，更优选地，所述中间体1、中间体2和无水三氯化铝的物质的量之比为1:1.2:1.2。将各原料用量控制在上述范围内，一方面有利于进一步提高中间体3的产率，一方面有利于避免原料过度浪费。

[0031] 本发明中，采用无水三氯化铝作为催化剂，控制中间体1和中间体2的反应条件，反应效率高，中间体3的纯度和收率高；反应结束后所得的反应液经萃取、洗涤、干燥和浓缩后，无需经过纯化即可得到纯度高的中间体3，简化操作，降低成本。

[0032] 本发明中，所述步骤S4包括如下步骤：向反应容器中加入中间体3、浓碱溶液和甲醇，油浴反应，反应完毕后，蒸干甲醇，加水后用乙酸乙酯萃取，经水洗、干燥、浓缩、过柱纯化后得中间体4；其中，油浴反应的温度为40-80℃；本发明中，中间体3在浓碱溶液的作用下进行分子内缩合、成环。所述浓碱溶液为本领域进行该反应常用的浓碱溶液，作为优选，所述浓碱溶液选自饱和氢氧化钠溶液、饱和氢氧化钾溶液、饱和氢氧化锂溶液中的一种或多种，但不局限于此。该步骤下，反应具有更高的效率和稳定性。

[0033] 本发明中，所述步骤S5包括如下步骤：向反应容器中加入中间体4、高碘酸盐、三氯化钌和混合溶剂，油浴反应，反应结束后将反应液冷却后浓缩，加水稀释，用乙酸乙酯萃取，收集有机相，有机相经干燥、浓缩、过柱纯化得到所述乙螨唑半抗原。

[0034] 其中，所述中间体4、高碘酸盐、三氯化钌的物质的量之比为1:(3-8):(0.05-0.2)，更优选地，所述中间体4、高碘酸盐、三氯化钌的物质的量之比为1:4:0.1；所述高碘酸盐可以为高碘酸钾，也可以为高碘酸钠，但不局限于此。所述混合溶剂由四氯化碳、乙腈和蒸馏水组成，其中，所述四氯化碳、乙腈和蒸馏水的体积比为(1-5):(1-5):(1.5-7.5)，更优选地，所述四氯化碳、乙腈和蒸馏水的体积比为1:4:5；油浴反应的温度为50-70℃。本发明中，选用高碘酸盐为氧化剂，三氯化钌为催化剂，合理控制上述反应条件，反应效率高，目标物的纯度和收率高。

[0035] 第三方面，本发明还提供上述乙螨唑半抗原在乙螨唑免疫检测分析中的应用。

[0036] 将上述合成的乙螨唑半抗原与载体偶联后合成乙螨唑人工抗原，乙螨唑人工抗原诱导免疫动物产生抗体，从而用于乙螨唑免疫检测分析中。

[0037] 所述的乙螨唑免疫检测包括但不限于为乙螨唑ELISA试剂盒和乙螨唑胶体金。

[0038] 下面结合实施例对本发明进行详细的说明，实施例仅是本发明的优选实施方式，不是对本发明的限定。

[0039] 实施例1

一种乙螨唑半抗原的合成方法，包括如下步骤：

S1，提供中间体1，其中，所述中间体1的制备方法为：在单口瓶中加入2,6-二氟苯甲酰胺和2-氯乙醛缩二甲醇，在冰水浴条件下搅拌5min，随后将浓硫酸缓慢滴加入其中，滴加完毕后室温下反应过夜，反应完毕后，将反应液倒入冰水中，充分搅拌，用乙酸乙酯进行萃取

2-3次,合并有机相,有机相经洗涤、浓缩后过柱纯化得到中间体1;其中,所述2,6-二氟苯甲酰胺、2-氯乙醛缩二甲醇和浓硫酸的物质的量之比为1:1.5:15;

S2,提供中间体2,其中,所述中间体2的制备方法为:向单口瓶中加入0.03mol 3-叔丁基苯酚、0.09mol碳酸钾和35mLDMF,搅拌均匀后加入0.045mol 6-溴-1-己烯,80℃下油浴反应,油浴反应完毕后,反应混合物冷却至室温,将反应混合物减压浓缩、加水稀释,用乙酸乙酯萃取,收集有机相,有机相经洗涤、浓缩后过柱纯化得到中间体2;

S3,将0.0096mol无水三氯化铝和15mL二氯甲烷加入三口瓶中,并在冰水浴下搅拌溶解;将0.008mol中间体1和0.0096mol中间体2溶于40mL二氯甲烷后,经滴液漏斗缓慢滴加到所述三口瓶中,滴加时间0.5-1h,滴加完毕后,将三口瓶转移至油浴,在加热搅拌下回流反应2h,反应结束后,将反应液冷却至室温;将反应液缓慢倒入90mL冰水中,充分搅拌,然后用二氯甲烷萃取,收集有机相,有机相经洗涤、无水硫酸钠干燥、浓缩得到中间体3;

S4,向单口瓶中加入4.5g中间体3、6mL浓碱溶液和35mL甲醇,50℃下油浴反应1h,反应完毕后,蒸干甲醇,加水稀释后用乙酸乙酯萃取,经水洗、干燥、浓缩、过柱纯化后得中间体4;其中,所述浓碱溶液为饱和氢氧化钠溶液;

S5,向单口瓶中加入0.008mol中间体4、0.032mol高碘酸盐、0.0008mol三氯化钌和混合溶剂,60℃下油浴反应2h,反应结束后将反应液冷却后浓缩,加水稀释,用乙酸乙酯萃取,收集有机相,有机相经无水硫酸钠干燥、浓缩、过柱纯化得到所述乙螨唑半抗原;其中,所述高碘酸盐为高碘酸钾;所述混合溶剂由四氯化碳、乙腈和蒸馏水组成,其中,所述四氯化碳、乙腈和蒸馏水的体积分别为10mL、10mL、15mL。

[0040] 实施例2

一种乙螨唑半抗原的合成方法,包括如下步骤:

S1,提供中间体1,其中,所述中间体1的制备方法为:在单口瓶中加入2,6-二氟苯甲酰胺和2-氯乙醛缩二甲醇,在冰水浴条件下搅拌5min,随后将浓硫酸缓慢滴加入其中,滴加完毕后室温下反应过夜,反应完毕后,将反应液倒入冰水中,充分搅拌,用乙酸乙酯进行萃取2-3次,合并有机相,有机相经洗涤、浓缩后过柱纯化得到中间体1;其中,所述2,6-二氟苯甲酰胺、2-氯乙醛缩二甲醇和浓硫酸的物质的量之比为1:1.2:10;

S2,提供中间体2,其中,所述中间体2的制备方法为:向单口瓶中加入0.03mol 3-叔丁基苯酚、0.3mol碳酸钾和35mLDMF,搅拌均匀后加入0.15mol 3-溴-1-丙烯,50℃下油浴反应,油浴反应完毕后,反应混合物冷却至室温,将反应混合物减压旋转浓缩、加水稀释,用乙酸乙酯萃取,收集有机相,有机相经洗涤、浓缩后过柱纯化得到中间体2;

S3,将0.08mol无水三氯化铝和15mL二氯甲烷加入250mL三口瓶中,并在冰水浴下搅拌溶解;将0.008mol中间体1和0.016mol中间体2溶于40mL二氯甲烷后,经滴液漏斗缓慢滴加到所述三口瓶中,滴加时间0.5-1h,滴加完毕后,将三口瓶转移至油浴,在加热搅拌下回流反应2h,反应结束后,将反应液冷却至室温;将反应液缓慢倒入90mL冰水中,充分搅拌,然后用二氯甲烷萃取,收集有机相,有机相经洗涤、无水硫酸钠干燥、浓缩得到中间体3;

S4,向100mL单口瓶中加入4.5g中间体3、6mL浓碱溶液和35mL甲醇,40℃下油浴反应1h,反应完毕后,蒸干甲醇,加水后用乙酸乙酯萃取,经水洗、干燥、浓缩、过柱纯化后得中间体4;其中,所述浓碱溶液为饱和氢氧化钾溶液;

S5,向单口瓶中加入0.016mol中间体4、0.048mol高碘酸盐、0.0008mol三氯化钌和混合

溶剂,50℃下油浴反应2h,反应结束后将反应液冷却后浓缩,加水稀释,用乙酸乙酯萃取,收集有机相,有机相经无水硫酸钠干燥、浓缩、过柱纯化得到所述乙螨唑半抗原;其中,所述高碘酸盐为高碘酸钠;所述混合溶剂由四氯化碳、乙腈和蒸馏水组成,其中,所述四氯化碳、乙腈和蒸馏水的体积分别为4mL、16mL、20mL。

[0041] 实施例3

一种乙螨唑半抗原的合成方法,包括如下步骤:

S1,提供中间体1,其中,所述中间体1的制备方法为:在单口瓶中加入2,6-二氟苯甲酰胺和2-氯乙醛缩二甲醇,在冰水浴条件下搅拌5min,随后将浓硫酸缓慢滴加入其中,滴加完毕后室温下反应过夜,反应完毕后,将反应液倒入冰水中,充分搅拌,用乙酸乙酯进行萃取2-3次,合并有机相,有机相经洗涤、浓缩后过柱纯化得到中间体1;其中,所述2,6-二氟苯甲酰胺、2-氯乙醛缩二甲醇和浓硫酸的物质的量之比为1:2:20;

S2,提供中间体2,其中,所述中间体2的制备方法为:向单口瓶中加入0.03mol 3-叔丁基苯酚、0.06mol碳酸钾和35mLDMF,搅拌均匀后加入0.036mol 4-溴-1-丁烯,50-110℃下油浴反应,油浴反应完毕后,反应混合物冷却至室温,将反应混合物减压旋转浓缩、加水稀释,用乙酸乙酯萃取,收集有机相,有机相经洗涤、浓缩后过柱纯化得到中间体2;

S3,将0.024mol无水三氯化铝和15mL二氯甲烷加入250mL三口瓶中,并在冰水浴下搅拌溶解;将0.008mol中间体1和0.012mol中间体2溶于40mL二氯甲烷后,经滴液漏斗缓慢滴加到所述三口瓶中,滴加时间0.5-1h,滴加完毕后,将三口瓶转移至油浴,在加热搅拌下回流反应2h,反应结束后,将反应液冷却至室温;将反应液缓慢倒入90mL冰水中,充分搅拌,然后用二氯甲烷萃取,收集有机相,有机相经洗涤、无水硫酸钠干燥、浓缩得到中间体3;

S4,向100mL单口瓶中加入4.5g中间体3、6mL浓碱溶液和35mL甲醇,80℃下油浴反应1h,反应完毕后,蒸干甲醇,加水后用乙酸乙酯萃取,经水洗、干燥、浓缩、过柱纯化后得中间体4;其中,所述浓碱溶液为饱和氢氧化锂溶液;

S5,向单口瓶中加入0.004mol中间体4、0.032mol高碘酸盐、0.0008mol三氯化钌和混合溶剂,70℃下油浴反应2h,反应结束后将反应液冷却后浓缩,加水稀释,用乙酸乙酯萃取,收集有机相,有机相经无水硫酸钠干燥、浓缩、过柱纯化得到所述乙螨唑半抗原;其中,所述高碘酸盐为高碘酸钾;所述混合溶剂由四氯化碳、乙腈和蒸馏水组成,其中,所述四氯化碳、乙腈和蒸馏水的体积分别为12mL、7mL、17mL。

[0042] 以上所述实施例仅表达了本发明的实施方式,其描述较为具体和详细,但并不能因此而理解为对本发明专利范围的限制,但凡采用等同替换或等效变换的形式所获得的技术方案,均应落在本发明的保护范围之内。

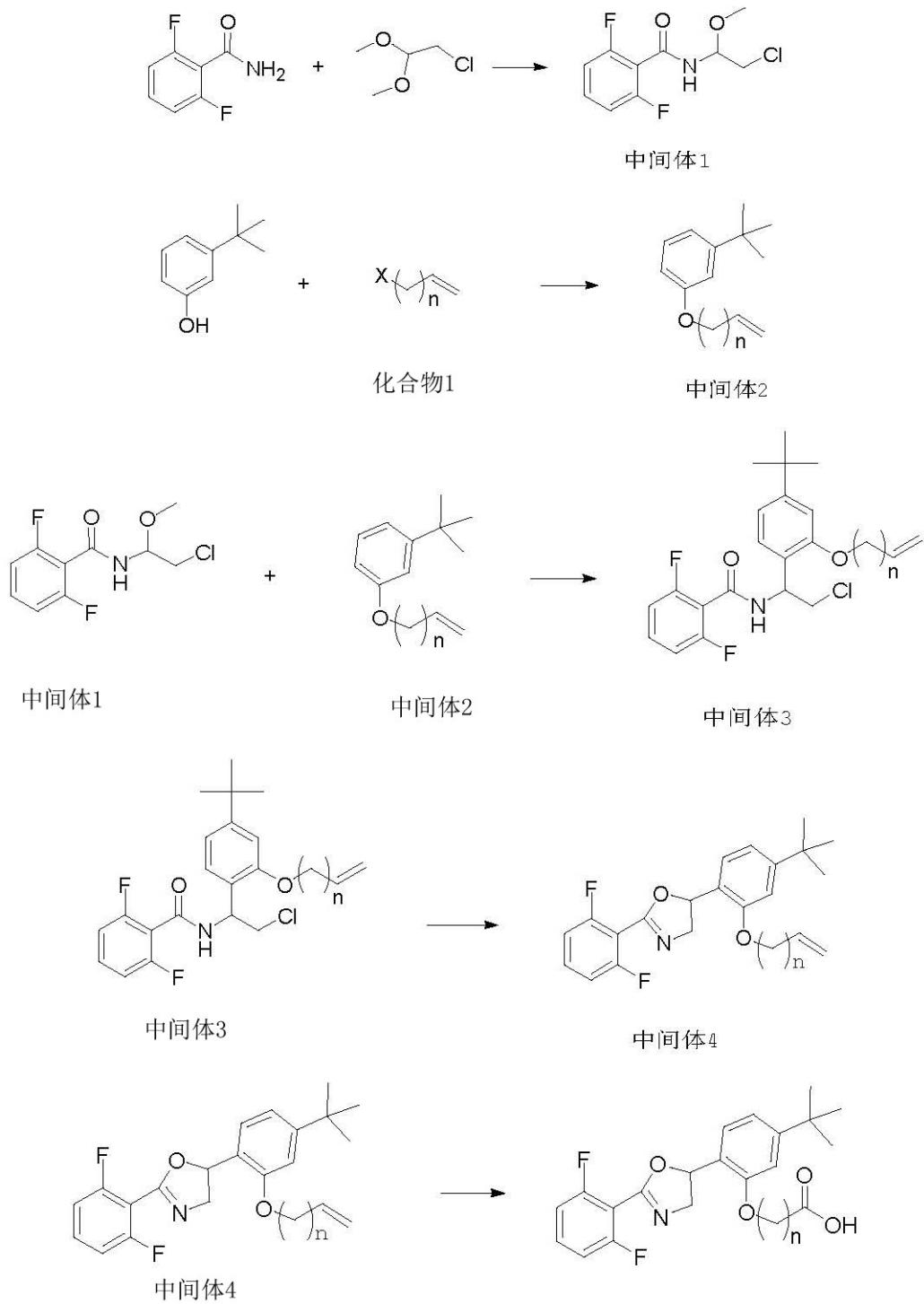
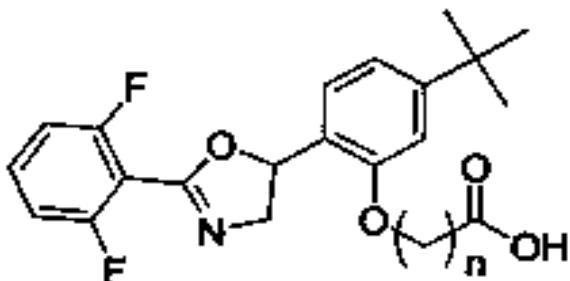


图1

| | | | |
|---------|---|---------|------------|
| 专利名称(译) | 一种乙螨唑半抗原及其合成方法和应用 | | |
| 公开(公告)号 | CN109970674A | 公开(公告)日 | 2019-07-05 |
| 申请号 | CN201910233073.8 | 申请日 | 2019-03-26 |
| [标]发明人 | 付辉 杨星星 李细清 王伟维 杨林林 曾文涛 王西丽 金虹 张鑫 曾楚怡 | | |
| 发明人 | 付辉 杨星星 李细清 王伟维 杨林林 曾文涛 王西丽 金虹 张鑫 曾楚怡 | | |
| IPC分类号 | C07D263/14 G01N33/53 | | |
| CPC分类号 | C07D263/14 G01N33/53 | | |
| 代理人(译) | 许青华 | | |
| 外部链接 | Espacenet Sipo | | |

摘要(译)

本发明公开了一种乙螨唑半抗原及其合成方法和应用，以2,6-二氟苯甲酰胺、2-氯乙醛缩二甲醇为起始原料合成中间体1；3-叔丁基苯酚与化合物1在碱性条件下反应生成中间体2；中间体1和中间体2发生反应生成中间体3；中间体3在强碱的作用下发生分子内部缩合反应生成中间体4；中间体4通过氧化生成最终目标物。本发明中，在乙螨唑的苯醚结构上衍生连接臂，衍生的连接臂带有羧基，合成的乙螨唑半抗原既最大程度保留了乙螨唑的特征结构，使得乙螨唑半抗原的免疫原性明显增强，又具有可以与载体发生偶联的羧基；乙螨唑半抗原与载体偶联后得到的乙螨唑人工抗原去免疫动物，更有利于刺激动物免疫应答产生特异性更强、灵敏度更高的抗体。



(I)