



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101407458 B

(45) 授权公告日 2012.06.06

(21) 申请号 200810197899.5

(22) 申请日 2008.11.25

(73) 专利权人 中国农业科学院油料作物研究所
地址 430062 湖北省武汉市武昌区徐东二路
2 号

(72) 发明人 李培武 张奇 张文 谢立华
丁小霞 姜俊 陈小媚

(74) 专利代理机构 湖北武汉永嘉专利代理有限公司 42102

代理人 胡建平

唐建设 等. “拟除虫菊酯类农药免疫分析人工抗原研究进展”. 《科技通报》. 2007, 第 23 卷 (第 6 期), 835-841.

Hee-Joo Kim et al.. “Development of Sensitive Immunoassays for the Detection of the Glucuronide Conjugate of 3-Phenoxybenzyl Alcohol, a Putative Human Urinary Biomarker for Pyrethroid Exposure”. 《J. Agric. Food Chem. 》. 2007, 第 55 卷 (第 10 期), 第 3750-3757 页.

审查员 孟超

(51) Int. Cl.

C07C 69/40 (2006.01)

C07C 67/08 (2006.01)

C07K 16/06 (2006.01)

G01N 33/536 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 101157638 A, 2008.04.09, 全文.

权利要求书 1 页 说明书 3 页

(54) 发明名称

I 型拟除虫菊酯类通用半抗原化合物及其合成方法

(57) 摘要

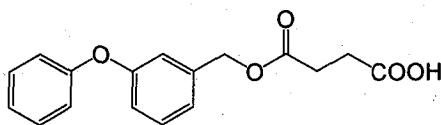
本发明涉及一种用于农药人工抗原和抗体制备领域的 I 型拟除虫菊酯类通用半抗原化合物及其合成方法。所述的 I 型拟除虫菊酯类通用半抗原化合物为 4- 羰基 -4-(3- 苯氧基苯甲氧基) 丁酸, 它以间苯氧基苯甲醇和丁二酸酐为主要原料, 将间苯氧基苯甲醇和丁二酸酐分别溶解在二氯甲烷中, 配成溶液, 通过滴加将丁二酸酐溶液与间苯氧基苯甲醇溶液混合反应, 反应结束后经纯化处理即成。本发明的可与载体蛋白偶联制备抗原、免疫动物制备抗体, 开发快速检测菊酯类农药多残留的免疫分析方法; 所合成的半抗原与更多的拟除虫菊酯农药有共性结构, 通用性更强; 本发明通过一步反应合成半抗原化合物, 操作步骤十分简单, 合成方法简便有效。

1. 一种 I 型拟除虫菊酯类通用半抗原化合物的合成方法,其特征在于以间苯氧基苯甲醇和丁二酸酐为主要原料,包括以下步骤:

1) 将间苯氧基苯甲醇溶解在二氯甲烷中,配成浓度为 0.3 ~ 3mol/L 的溶液,待冷却至 0 ~ 40℃后加入反应容器中,

2) 将丁二酸酐溶解在二氯甲烷中,配成浓度为 0.3 ~ 3mol/L 的溶液,待冷却至 0 ~ 40℃后向反应容器中滴加,滴加完后搅拌反应 2 ~ 15 小时,反应温度为 0 ~ 40℃,反应的原料间苯氧基苯甲醇和丁二酸酐的摩尔比为 1 : 0.5 ~ 2,反应结束后经纯化处理即生成固体状的 4-羧基-4-(3-苯氧基苯甲氧基)丁酸,亦即 I 型拟除虫菊酯类通用半抗原化合物;

所述的 I 型拟除虫菊酯类通用半抗原化合物为 4-羧基-4-(3-苯氧基苯甲氧基)丁酸,其化学结构简式如下:



2. 按权利要求 1 所述的 I 型拟除虫菊酯类通用半抗原化合物的合成方法,其特征在于反应结束后用旋转蒸发的方法除去大部分有机溶剂,然后用硅胶柱色谱的方法进行纯化。

3. 按权利要求 1 或 2 所述的 I 型拟除虫菊酯类通用半抗原化合物的合成方法,其特征在于将间苯氧基苯甲醇 0.46g 溶解于 5mL 二氯甲烷,配成 2.5mol/L 的溶液,冷却至 10℃;将丁二酸酐 0.25g 溶解于 5mL 二氯甲烷,配成 0.48mol/L 的溶液,冷却至 10℃后向反应瓶中滴加,滴加完后搅拌反应 8 小时,反应温度为 10℃,反应原料间苯氧基苯甲醇和丁二酸酐的摩尔比为 1 : 1.2。

4. 按权利要求 1 或 2 所述的 I 型拟除虫菊酯类通用半抗原化合物的合成方法,其特征在于将间苯氧基苯甲醇 0.35g 溶解于 5mL 二氯甲烷,配成 0.3mol/L 的溶液,冷却至 20℃;将丁二酸酐 0.17g 溶解于 5mL 二氯甲烷,配成 0.35mol/L 的溶液,冷却至 20℃后向反应瓶中滴加,滴加完后搅拌反应 4 小时,反应温度为 20℃,反应原料间苯氧基苯甲醇和丁二酸酐的摩尔比为 1 : 1.1。

5. 按权利要求 1 或 2 所述的 I 型拟除虫菊酯类通用半抗原化合物的合成方法,其特征在于将间苯氧基苯甲醇 1.18g 溶解于 5mL 二氯甲烷,配成 1mol/L 的溶液,冷却至 30℃;将丁二酸酐 1.02g 溶解于 10mL 二氯甲烷,配成 1mol/L 的溶液,冷却至 30℃后向反应瓶中滴加,滴加完后搅拌反应 15 小时,反应温度为 30℃,反应原料间苯氧基苯甲醇和丁二酸酐的摩尔比为 1 : 2。

I 型拟除虫菊酯类通用半抗原化合物及其合成方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于农药人工抗原和抗体制备领域的 I 型拟除虫菊酯类通用半抗原化合物及其合成方法。

背景技术

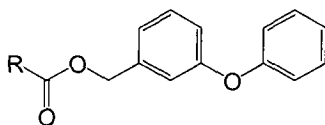
[0002] 农药残留问题已经成为当今社会普遍关注的热点问题。拟除虫菊酯类农药是三大类杀虫剂之一,具有杀虫谱广、毒性中等、蓄积性等特点。随着高毒性的有机磷、氨基甲酸酯农药品种的禁用或限用,拟除虫菊酯类农药的使用越来越广泛,但这类农药残留问题也日益显现。拟除虫菊酯类农药残留超标问题是我国茶叶等农产品出口贸易中最多见的问题。因此,监控拟除虫菊酯类农药残留意义重大。

[0003] 农药残留检测技术特别是快速检测技术是对农药残留进行监控的有效手段。免疫分析技术是农药残留快速检测技术研究的热点,其研究流程分为(1)农药半抗原设计与合成,(2)农药人工抗原制备,(3)农药抗体制备,(4)农药残留免疫分析方法建立、应用评价等四个部分。可见,农药半抗原设计与合成是农药残留免疫分析技术研究的源头和基础。

[0004] 目前研究者们已经对农药半抗原合理设计有一些公认的一般规则,刘毅华等人在 2007 年第 3 期《农药学学报》上作了较为详细的总结,内容主要包括:(1)半抗原结构中应含有全部或者大部分农药结构,一类农药通用半抗原结构中应含有这类农药的全部或者大部分共性结构,(2)半抗原结构上含有一个可与载体蛋白发生共价反应的活性基团(如 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{COCl}$ 、 $-\text{SCN}$ 等),(3)半抗原通常还含有一条 3-6 个碳原子长度的连接臂。

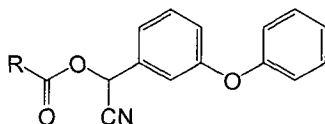
[0005] 根据拟除虫菊酯类农药杀虫机理的差异,该类农药通常被学者们划分为两类,即 I 型拟除虫菊酯类农药和 II 型拟除虫菊酯类农药。I 型拟除虫菊酯类农药不含有氰基,其结构通式如下:

[0006]



[0007] 可见,R 基团以外的不带氰基的酯和二苯氧基结构为 I 型拟除虫菊酯类农药共性结构。这类农药品种主要有氯菊酯、苯醚菊酯、戊菊酯等。II 型拟除虫菊酯类农药含有氰基,其结构通式如下:

[0008]



[0009] 可见,R 基团以外的带氰基的酯和二苯氧基结构为 II 型拟除虫菊酯类农药共性结构。这类农药品种主要有溴氰菊酯、氯氰菊酯、三氟氯氰菊酯、甲氰菊酯、氰戊菊酯等。II 型拟除虫菊酯类半抗原化合物与合成方法已有一些报道,但这些半抗原通常合成步骤较多或合成条件苛刻,如 1998 年澳大利亚 John H. Skerritt 研究组报道的半抗原需要经过 4 步反

应合成,2005 年美国 Bruce D Hammock 教授研究组报道的半抗原需要经过条件苛刻的 2 步反应合成,2008 年我国朱国念等人发明专利中公开的半抗原需要经过 5 步反应合成。I 型拟除虫菊酯类通用半抗原合成方法目前还未见报道。

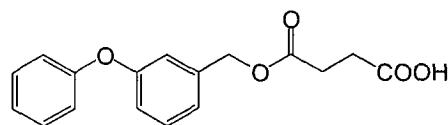
发明内容

[0010] 本发明所要解决的技术问题是提供一种新的 I 型拟除虫菊酯类通用半抗原化合物及其简便的合成方法。

[0011] 本发明半抗原化合物的技术方案为：

[0012] 所述的 I 型拟除虫菊酯类通用半抗原化合物为 4-羧基-4-(3-苯氧基苯甲氧基)丁酸,其化学结构简式如下：

[0013]



[0014] 本发明 I 型拟除虫菊酯类通用半抗原化合物合成方法技术方案为：

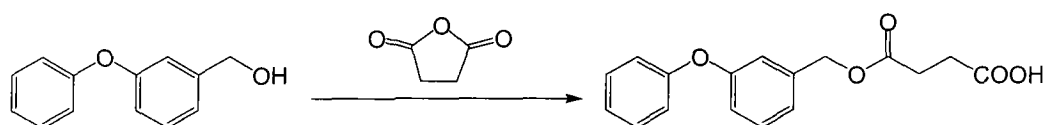
[0015] 以间苯氧基苯甲醇和丁二酸酐为主要原料,包括以下步骤：

[0016] 1) 将间苯氧基苯甲醇溶解在二氯甲烷中,配成浓度为 0.3 ~ 3mol/L 的溶液,待冷却至 0 ~ 40℃后加入反应容器中,

[0017] 2) 将丁二酸酐溶解在二氯甲烷中,配成浓度为 0.3 ~ 3mol/L 的溶液,待冷却至 0 ~ 40℃后向反应容器中滴加,滴加完后搅拌反应 2 ~ 15 小时,反应温度为 0 ~ 40℃,反应的原料间苯氧基苯甲醇和丁二酸酐的摩尔比为 1:0.5 ~ 2,反应结束后经纯化处理即生成固体状的 4-羧基-4-(3-苯氧基苯甲氧基)丁酸,亦即 I 型拟除虫菊酯类通用半抗原化合物。

[0018] 本发明半抗原化合物的合成路线如下所示：

[0019]



[0020] I 型拟除虫菊酯类通用半抗原

[0021] 本发明的有益效果在于：

[0022] (1) 本发明的 I 型拟除虫菊酯通用半抗原化合物具有一个 -COOH 结构、且含有 I 型拟除虫菊酯类农药共有结构,可利用其通过活泼酯或混合酸酐等方法与载体蛋白的氨基反应生成酰胺键,从而很容易实现半抗原与载体蛋白的共价结合;(2) 本发明的 I 型拟除虫菊酯通用半抗原化合物包含了 I 型拟除虫菊酯类农药的共性结构:不带氰基的酯和二苯氧环结构,所以其可用作半抗原,并可与载体蛋白偶联制备抗原、并进行免疫动物制备抗体,开发快速检测菊酯类农药多残留的免疫分析方法,因此其具备独特的优点;(3) 本发明合成的半抗原化合物中不带有三元环结构,因此所合成的半抗原与更多的拟除虫菊酯农药有共性结构,通用性更强;(4) 本发明通过一步反应合成半抗原化合物,操作步骤十分简单,合成方法简便有效,为拟除虫菊酯类农药残留免疫分析和快速检测奠定了基础。

具体实施方式

[0023] 实施例 1

[0024] 1) 将间苯氧基苯甲醇 0.46g (2mmol) 溶解于 5mL 二氯甲烷, 配成 2.5mol/L 的溶液, 冷却至 10℃。

[0025] 2) 将丁二酸酐 0.25g (2.4mmol) 溶解于 5mL 二氯甲烷, 配成 0.48mol/L 的溶液, 冷却至 10℃后向反应瓶中滴加, 滴加完后搅拌反应 8 小时, 反应温度为 10℃, 反应原料间苯氧基苯甲醇和丁二酸酐的摩尔比为 1:1.2。反应结束后采用旋转蒸发的方法除去大部分有机溶剂, 然后采用硅胶柱色谱的方法进行纯化, 得白色固体产物 0.56g (1.8mmol), 产率 94%, 该产物即为 I 型拟除虫菊酯类通用半抗原 4-羰基-4-(3-苯氧基苯甲氧基) 丁酸。

[0026] 采用电喷雾质谱和核磁共振两种方法对步骤 2) 生成的 I 型拟除虫菊酯类通用半抗原进行结构鉴定, 鉴定结果为: ESI-MS: 299 (M-H)⁻ (100 %); ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.664-2.704 (m, 4H, CH₂CH₂), 5.109 (s, 2H, CH₂), 6.940-7.360 (m, 9H, ArH), 与理论值基本吻合, 证明 I 型拟除虫菊酯类通用半抗原合成成功。

[0027] 实施例 2

[0028] 1) 将间苯氧基苯甲醇 0.35g (1.5mmol) 溶解于 5mL 二氯甲烷, 配成 0.3mol/L 的溶液, 冷却至 20℃。

[0029] 2) 将丁二酸酐 0.17g (1.65mmol) 溶解于 5mL 二氯甲烷, 配成 0.35mol/L 的溶液, 冷却至 20℃后向反应瓶中滴加, 滴加完后搅拌反应 4 小时, 反应温度为 20℃, 反应原料间苯氧基苯甲醇和丁二酸酐的摩尔比为 1:1.1。反应结束后采用旋转蒸发的方法除去大部分有机溶剂, 然后采用硅胶柱色谱的方法进行纯化, 得白色固体产物 0.41g (1.37mmol), 产率 91%, 该产物即为 I 型拟除虫菊酯类通用半抗原 4-羰基-4-(3-苯氧基苯甲氧基) 丁酸。

[0030] 对步骤 2) 生成的白色固体产物的结构鉴定方法、数据和结论同实施例 1。

[0031] 实施例 3

[0032] 1) 将间苯氧基苯甲醇 1.18g (5mmol) 溶解于 5mL 二氯甲烷, 配成 1mol/L 的溶液, 冷却至 30℃。

[0033] 2) 将丁二酸酐 1.02g (10mmol) 溶解于 10mL 二氯甲烷, 配成 1mol/L 的溶液, 冷却至 30℃后向反应瓶中滴加, 滴加完后搅拌反应 15 小时, 反应温度为 30℃, 反应原料间苯氧基苯甲醇和丁二酸酐的摩尔比为 1:2。反应结束后采用旋转蒸发的方法除去大部分有机溶剂, 然后采用硅胶柱色谱的方法进行纯化, 得白色固体产物 1.47g (4.9mmol), 产率 98%, 该产物即为 I 型拟除虫菊酯类通用半抗原 4-羰基-4-(3-苯氧基苯甲氧基) 丁酸。

[0034] 对步骤 2) 生成的白色固体产物的结构鉴定方法、数据和结论同实施例 1。

专利名称(译)	I型拟除虫菊酯类通用半抗原化合物及其合成方法		
公开(公告)号	CN101407458B	公开(公告)日	2012-06-06
申请号	CN200810197899.5	申请日	2008-11-25
[标]申请(专利权)人(译)	中国农业科学院油料作物研究所		
申请(专利权)人(译)	中国农业科学院油料作物研究所		
当前申请(专利权)人(译)	中国农业科学院油料作物研究所		
[标]发明人	李培武 张奇 张文 谢立华 丁小霞 姜俊 陈小媚		
发明人	李培武 张奇 张文 谢立华 丁小霞 姜俊 陈小媚		
IPC分类号	C07C69/40 C07C67/08 C07K16/06 G01N33/536		
代理人(译)	胡建平		
审查员(译)	孟超		
其他公开文献	CN101407458A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种用于农药人工抗原和抗体制备领域的I型拟除虫菊酯类通用半抗原化合物及其合成方法。所述的I型拟除虫菊酯类通用半抗原化合物为4-羧基-4-(3-苯氧基苯甲氧基)丁酸，它以间苯氧基苯甲醇和丁二酸酐为主要原料，将间苯氧基苯甲醇和丁二酸酐分别溶解在二氯甲烷中，配成溶液，通过滴加将丁二酸酐溶液与间苯氧基苯甲醇溶液混合反应，反应结束后经纯化处理即成。本发明的可与载体蛋白偶联制备抗原、免疫动物制备抗体，开发快速检测菊酯类农药多残留的免疫分析方法；所合成的半抗原与更多的拟除虫菊酯农药有共性结构，通用性更强；本发明通过一步反应合成半抗原化合物，操作步骤十分简单，合成方法简便有效。

