

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.  
C07F 9/165 (2006.01)



## [12] 发明专利说明书

专利号 ZL 01823914.5

[45] 授权公告日 2007 年 10 月 24 日

[11] 授权公告号 CN 100344640C

[22] 申请日 2001.12.29 [21] 申请号 01823914.5

[30] 优先权

[32] 2001.12.28 [33] KR [31] 87382/2001

[86] 国际申请 PCT/KR2001/002301 2001.12.29

[87] 国际公布 WO2003/055895 英 2003.7.10

[85] 进入国家阶段日期 2004.6.28

[73] 专利权人 李庸泰

地址 韩国大邱广域市

[72] 发明人 李庸泰 李惠成 金 廷

[56] 参考文献

US5830770A 1998.11.3

JP11140100A 1999.5.25

JP11255786A 1999.9.21

Use of phosphonic Acid as a Generic Hapten in the Production of Broad Specificity Anti - Organophosphate Pesticide Antibody M. J. C. ACLCO-CER, et al, Journal of Agricultural and Food Chemistry, American Chemical Society, Vol. 48 No. 6 2000

审查员 潘 剑

[74] 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限责任公司

代理人 杨 青 樊卫民

权利要求书 1 页 说明书 12 页

[54] 发明名称

制备用于硫代磷酸酯杀虫剂免疫分析的半抗原的方法

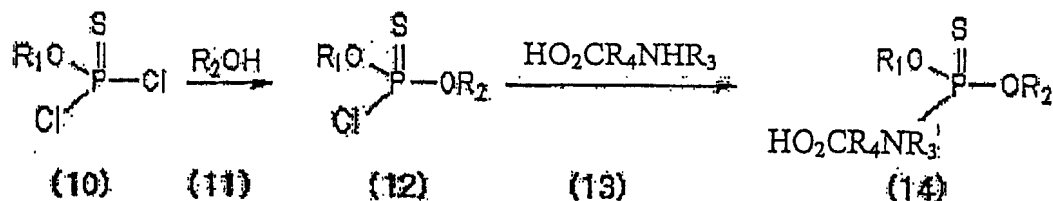
[57] 摘要

本发明涉及一种制备用于硫代磷酸酯杀虫剂免疫分析的半抗原的方法，其包括步骤：将 O - 甲基(乙基)二氯硫代磷酸酯与酚类化合物反应来获得 O - 甲基(乙基)O - 芳基氯硫代磷酸酯，并将获得的 O - (甲基)乙基 O - 芳基氯硫代磷酸酯与氨基酸反应来产生目的半抗原。根据本发明，具有 O - 甲基(乙基)O - 芳基 - (羧基烷基)硫代氨基磷酸酯或 O - 甲基(乙基)O - 芳基 N - 烷基 - N - (羧基烷基)硫代氨基磷酸酯结构的半抗原可通过以有成本效益的方式利用两步处理法来高产率简单地进行制备。

1. 一种制备用于有机磷硫代磷酸酯杀虫剂免疫分析的半抗原的方法，其包括如下步骤：

(i) 将化合物(10)与酚类化合物(11)以及  $K_2CO_3$  在乙腈中  $4^\circ C$  下反应 30 到 90 分钟来获得化合物(12)；和，

(ii) 将化合物(12)与化合物(13)以及 KOH 在甲醇中  $4^\circ C$  下反应 3 到 5 分钟来获得化合物(14)



其中，

$R_1$  是甲基或乙基；

$R_2$  是芳基；

$R_3$  是氢或烃基；以及，

$R_4$  是聚亚甲基。

2. 根据权利要求 1 所述的制备用于有机磷硫代磷酸酯杀虫剂免疫分析的半抗原的方法，其中所述的硫代磷酸酯杀虫剂选自：倍硫磷，杀螟硫磷，对硫磷，甲基对硫磷，甲基溴硫磷，乙基溴硫磷，毒死蜱，甲基毒死蜱，二嗪农，异丙胺磷。

## 制备用于硫代磷酸酯杀虫剂免疫分析的半抗原的方法

### 发明背景

### 发明领域

本发明涉及一种制备用于硫代磷酸酯杀虫剂免疫分析的半抗原的方法，更具体地，涉及一种通过用酚类化合物与二氯硫代磷酸 O-甲基(乙基)酯反应来获得 O-芳基氯硫代磷酸 O-甲基(乙基)酯，并将由此获得的 O-芳基氯硫代磷酸 O-甲基(乙基)酯与氨基酸反应，来制备用于有机磷硫代磷酸酯杀虫剂免疫分析的半抗原的方法。

### 现有技术的描述

自从 20 世纪 30 年代 Schrader 发现了一种具有杀虫活性的有机磷化合物以来，在本领域中已经发展了大量具有高度生物学活性的有机磷杀虫剂，以符合阻止使用有机氯杀虫剂的运动。现在，有机磷杀虫剂在当前的杀虫剂中占大多数。此外，值得注意的是其中大约 100,000 种已被鉴定具有杀虫活性，且它们中的超过 100 种可以市售获得。

有机磷杀虫剂被依据其磷原子周围的化学结构分为磷酸酯，硫代磷酸酯，硫醇磷酸酯，二硫代磷酸酯，麟酸酯，硫代麟酸酯，二硫代麟酸酯，phosphorothiolothinate，以及焦磷酰胺（参见：表 1）。在它们之中，硫代磷酸酯和二硫代磷酸酯被认为是农业中最重要的杀虫剂且已经成为分析残留杀虫剂的主要对象。

残留杀虫剂的分析主要借助于 GC 或 HPLC 来进行，其中两者都具有固有的缺点即预处理步骤费时，机器和工具昂贵，以及需要专门的技术且对 GC 而言，不可能来分析热不稳定的材料以及对 HPLC 而言，很难用于分析没有发色团的杀虫剂。为解决这些问题，人们从 20 世纪 70 年代开始进行了许多尝试来利用免疫分析方法分析残留杀虫剂其主

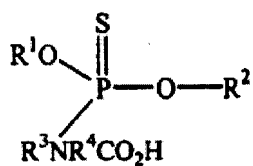
要地被用来分析生物组分或临床诊断。残留杀虫剂免疫分析的下述各方面比传统的方法更为有利：高灵敏度；不需要进行预处理样品；且由于其允许同时迅速分析多重样品所以成本较低。

免疫分析基于抗体和抗原之间的具有高度亲合力的特异性结合。因此，为了发展免疫分析，应制备合适的抗原来产生用于分析材料的抗体。然而，低分子量材料，诸如杀虫剂，不能用作它们自己的抗原且因此，抗体不能被产生。在这种情况下，对应该合成半抗原来制备杀虫剂-特异性抗原的需求已经增加，其中所述的半抗原具有与杀虫剂相似的结构且能与蛋白质形成共价键的官能团。同样，需要合成半抗原来用于制备用于竞争性-免疫分析方法的酶示踪剂和固定抗原、竞争剂。

表 1: 有机磷杀虫剂的分类

分类	结构	实例
磷酸酯		敌敌畏
硫代磷酸酯		对硫磷
硫醇磷酸酯		氧乐果
二硫代磷酸酯		马拉硫磷
麟酸酯		敌百虫
硫代麟酸酯		EPN
二硫代麟酸酯		地虫磷
硫代硫酸麟酸酯		灭克磷
麟酸酰胺		甲氟磷

通常，用于硫代磷酸酯杀虫剂免疫分析的半抗原可以使用如下的化学结构：



其中，

R<sub>1</sub>是甲基或乙基；

R<sub>2</sub>是芳基；

R<sub>3</sub>是氢或烷基；和，

R<sub>4</sub>是聚亚甲基。

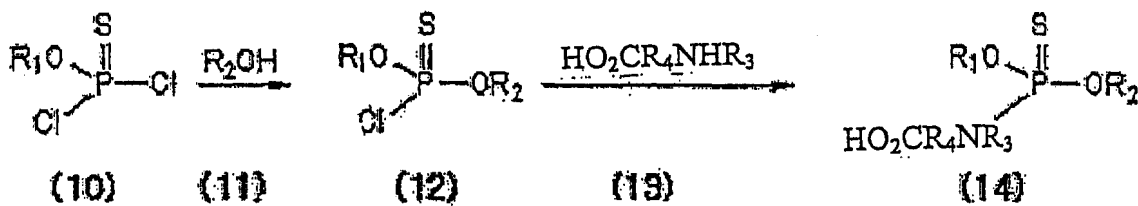
上述半抗原中，具有其中 R<sub>3</sub>是氢且 R<sub>4</sub>是亚甲基或亚戊基的半抗原目前已经合成。具有其中 R<sub>3</sub>是氢且 R<sub>4</sub>是二亚甲基结构的半抗原通过包括如下步骤的方法合成：(i)3-氨基丙酸(1)与苄基氯甲酸酯反应来获得3-(苄氧基羰基氨基)丙酸(2)；(ii)由此获得的3-(苄氧基羰基氨基)丙酸与叔-丁醇在二环己基碳二亚胺(DCC)存在下反应来获得叔-丁基 3-(苄氧基羰基氨基)丙酸酯(3)；(iii)通过利用催化剂氢化去除由此获得的叔-丁基 3-(苄氧基羰基氨基)丙酸酯(3)的氨基保护基来获得叔-丁基 3-氨基丙酸酯(4)；(iv)由此获得的叔-丁基 3-氨基丙酸酯(4)与 O-甲基或者 O-乙基二氯硫代磷酸酯(5)反应来获得叔-丁基 3-[氯代(烷氧基)-phosphorothioyl-氨基]-丙酸酯(6)；(v)由此获得的叔-丁基 3-[氯代(烷氧基)-phosphorothioyl-氨基]-丙酸酯与苯酚(7)的钠盐反应来获得叔-丁基 3-[烷氧基(芳氧基)phosphorothioyl 氨基]-丙酸酯(8)；以及，(vi)用三氟乙酸(TFA)除去叔-丁基 3-[烷氧基(芳氧基)phosphorothioyl 氨基]-丙酸酯(8)的叔-丁基保护基来获得3-[烷氧基(芳氧基)phosphorothioyl 氨基]-丙酸(9)。具有其中 R<sub>3</sub>是氢且 R<sub>4</sub>是亚戊基结构的半抗原已经利用6-氨基己酸代替3-氨基丙酸通过类似的方法合成。



杀虫剂免疫分析的半抗原的方法。

### 发明详述

一种制备用于有机磷硫代磷酸酯杀虫剂的免疫分析的半抗原的方法，包括步骤：(i) 4°C下用化合物(10)与酚类化合物(11)以及  $K_2CO_3$  在乙腈中反应 30 到 90 分钟来获得化合物(12)；以及，(ii) 4°C下将化合物(12)与化合物(13)以及 KOH 在甲醇中反应 3 至 5 分钟来获得化合物(14)。所述硫代磷酸酯杀虫剂包含倍硫磷(fenthion)，杀螟硫磷(fenitrothion)，对硫磷，甲基对硫磷，甲基溴硫磷(bromophos-methyl)，乙基溴硫磷(bromophos-ethyl)，毒死蜱(chlorpyrifos)，甲基毒死蜱(chlorpyrifos-methyl)，二嗪农，异丙胺磷。



其中，

$R_1$  是甲基或乙基；

$R_2$  是芳基；

$R_3$  是氢或烷基；和，

$R_4$  是聚亚甲基。

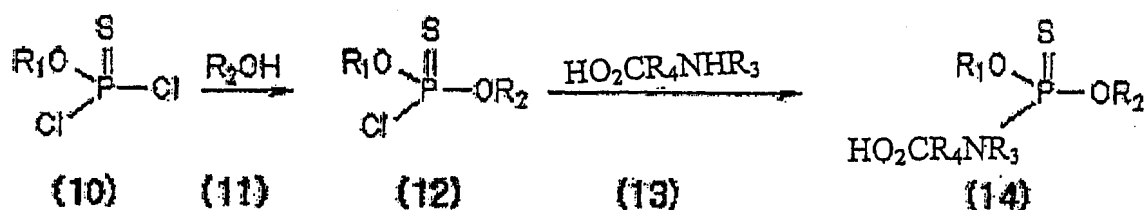
本发明在下文实施例中进行进一步的说明，其不应被理解为对本发明范围的限制。

### 实施例 1：用于硫代磷酸酯杀虫剂免疫分析的半抗原的制备

通过 O-甲基(乙基)二氯硫代磷酸酯与酚反应获得的 O-芳基氯硫代磷酸 O-甲基(乙基)酯与氨基酸反应来产生用于硫代磷酸酯杀虫剂免疫分析的半抗原：向 46mmol 的 O-甲基(乙基)二氯硫代磷酸酯

(10) 的 30ml 乙腈溶液中加入 45g 的重质  $K_2CO_3$  和溶解在 30mL 乙腈中的 42mmol 的酚 (11) 并在室温下搅拌混合物 1 小时。然后, 反应混合物用 cellite 过滤, 从滤液中蒸发溶剂, 且残余物用于通过苯/己烷(1:1, v/v)或己烷/丁酸(10:1, v/v)平衡的硅胶柱层析, 来获得 O-芳基氯代硫代磷酸 O-甲基(乙基)酯 (12) 的油状化合物。

2.1 mmol 由此获得的 O-芳基氯代硫代磷酸 O-甲基(乙基)酯 (12) 的 3ml 甲醇溶液, 放入 4°C 的冰水中, 搅拌 3 到 5 分钟徐徐加入溶解在 1.7mL 甲醇中的 5.2mmol (292mg) 的 KOH 和 2.6mmol 的氨基酸(13)。在氨基酸为氯化物的情况下, KOH 与氨基酸的摩尔比为 3。反应溶液被灌注到分液漏斗中并通过加入 1N HCl 和氯仿提取产物。提取物用  $MgSO_4$  脱水, 蒸发溶剂, 且残余物被用于通过氯仿:乙酸乙酯:乙酸 (65:35:1, v/v/v) 平衡的硅胶柱层析, 来获得用于硫代磷酸酯杀虫剂免疫分析的化合物 (14)。在下面的化学反应式中,  $R_1$  是甲基或乙基,  $R_2$  是芳基,  $R_3$  是氢或烷基, 以及  $R_4$  是聚亚甲基。。



### 实施例 2: 用于硫代磷酸酯杀虫剂免疫分析的半抗原的合成

通过利用实施例 1 的方法, 合成带有不同取代基 ( $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  和  $R_4$ ) 的半抗原来用于硫代磷酸酯杀虫剂诸如甲基对硫磷, 毒死蜱和异丙胺磷的免疫分析。用于硫代磷酸酯杀虫剂免疫分析的半抗原的不同结构显示在下述表 2 中, 其中 Ph 和 Pyr 分别表示苯环和吡啶基。

表 2: 用于硫代磷酸酯杀虫剂免疫分析的半抗原的不同结构

	硫代磷酸酯杀虫剂	$R_1$	$R_2$	$R_3$	$R_4$
A	甲基对硫磷	$CH_3$	Ph- <i>p</i> - $NO_2$	H	$-(CH_2)_3-$

B	甲基对硫磷	CH <sub>3</sub>	Ph- <i>p</i> -NO <sub>2</sub>	H	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -
C	甲基对硫磷	CH <sub>3</sub>	Ph- <i>p</i> -NO <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -
D	毒死蜱 (Chloropyrifos )	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub>	Pyr-(3, 5, 6)-三氯	H	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -
E	毒死蜱 (Chloropyrifos )	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub>	Pyr-(3, 5, 6)-三氯	H	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -
F	毒死蜱 (Chloropyrifos )	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub>	Pyr-(3, 5, 6)-三氯	CH <sub>3</sub>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -
G	异丙胺磷	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub>	Ph-O-CO <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	-CH(CH <sub>3</sub> )CH <sub>2</sub> -

<sup>1</sup>H NMR 分析显示合成的半抗原具有与表 2 中显示的半抗原结构相同的光谱。在 <sup>1</sup>H NMR 光谱中，化学位移 (ppm) 的值相对于内部四甲基硅烷给出并且耦合常数的值(J)用 Hz 和 s, d, t, q, qn, sext, sp 表示，且和 m 分别表示单重峰，双重峰，三重峰，四重峰，五重峰，六重峰，七重峰，和多重峰。

### 实施例 2-1：半抗原 A 的合成

通过利用实施例 1 的方法，合成了半抗原 A (R<sub>1</sub> = 甲基, R<sub>2</sub> = *p*-硝基苯基, R<sub>3</sub> = 氢且 R<sub>4</sub> = (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>): 向 4.59g (28mmol) 溶于 20mL 乙腈的二氯硫代磷酸 O-甲基酯中, 加入溶解于 15mL 乙腈中的 20g 重质 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 和 3.00g (22mmol) 4-硝基酚并在室温下搅拌混合物 1 小时。然后, 反应混合物用 cellite 过滤, 蒸发滤液中的溶剂, 且残留物用于通过苯/己烷(1:1, v/v)平衡的硅胶柱层析, 来获得 O-(4-硝基苯基)氯代硫代磷酸 O-甲基酯的油状化合物。化合物的产率为 70%且其 NMR 数据如下:

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.28 (2H, d, J=6.1, ar), 7.42 (2H, d, J=7.2, ar), 4.03(3H, d, J=16.5, CH<sub>3</sub>OP)

由此获得的 500mg(1.87mmol)O-(4-硝基苯基)氯代硫代磷酸 O-甲基酯的 3ml 甲醇溶液, 放入 4°C 的冰水中, 并搅拌 3 到 5 分钟徐徐加入 274mg(4.9mmol)的 KOH 和 229mg(2.2mmol)的氨基丁酸的甲醇溶液。反应溶液被灌注到分液漏斗中并通过加入 1N HCl 和氯仿提取产物。提

取物用  $\text{MgSO}_4$  脱水，蒸发溶剂，且残余物被用于通过氯仿：乙酸乙酯：乙酸(65:35:1, v/v/v)平衡的硅胶柱层析，来获得表 2 中的半抗原 A。半抗原 A 产量为 81%且其 NMR 数据如下：

$^1\text{H}$  NMR(300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  8.24 (2H, d,  $J=8.9$ , ar), 7.38 (2H, d,  $J=8.3$ , ar), 3.81(3H, d,  $J=14.1$ ,  $\text{CH}_3\text{OP}$ ), 3.47(1H, qn,  $J=7.4$ , NH), 3.17 (2H, sext,  $J=6.8$ ,  $\text{NCH}_2$ ), 2.46(2H, t,  $J=7.0$ ,  $\text{CH}_2\text{CO}_2$ ), 1.88 (2H, qn,  $J=7.0$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ )

### 实施例 2-2：半抗原 B 的合成

通过利用实施例 1 的方法，合成了半抗原 B ( $R_1$ =甲基,  $R_2$ = $\rho$ -硝基苯基,  $R_3$ =氢且  $R_4$ =( $\text{CH}_2$ )<sub>5</sub>) : 500mg(1.9mmol)O-(4-硝基苯基)氯代硫代磷酸 O-甲基酯的 3ml 甲醇溶液，放入 4℃的冰水中，并搅拌 3 到 5 分钟徐徐加入 274mg(4.9mmol)的 KOH 和 291mg(2.2mmol) 的 6-氨基己酸的 1.7mL 的甲醇溶液。然后，以类似于实施例 2-1 的方式合成半抗原 B，其产率为 88%且 NMR 数据如下：

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.24 (2H, d,  $J=8.9$ , ar), 7.37(2H, d,  $J=9.2$ , ar), 3.81 (3H, d,  $J=14.2$   $\text{CH}_3\text{OP}$ ), 3.34(1H, qn,  $J=7.3$ , NH), 3.09 (2H, sext,  $J=6.9$ ,  $\text{NCH}_2$ ), 2.37 (2H, t,  $J=7.3$ ,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 1.68 (2H, qn,  $J=7.6$ ,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.56 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 1.40 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ )。

### 实施例 2-3：半抗原 C 的合成

通过利用实施例 1 的方法，合成半抗原 C( $R_1$ =甲基,  $R_2$ = $\rho$ -硝基苯基,  $R_3$ =甲基且  $R_4$ =( $\text{CH}_2$ )<sub>3</sub>) : 202mg(0.76mmol)的 O-(4-硝基苯基)氯代硫代磷酸 O-甲酯的 1.5ml 甲醇溶液，放入 4℃的冰水中，并搅拌 5 分钟徐徐加入 207mg(3.7mmol)的 KOH 和 154mg(1.0mmol)的 4-(甲基氨基)丁酸（氯化物的盐）的 1.5mL 甲醇溶液。然后，以类似于实施例 2-1 的方式合成半抗原 C，其产率为 70%且 NMR 数据如下：

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.23(2H, d,  $J=9.0$ , ar), 7.31 (2H, d,  $J=9.0$ , ar), 3.76 (3H, d,  $J=14.1$ ,  $\text{CH}_3\text{OP}$ ), 3.36 (2H, m,  $\text{NCH}_2$ ),

2.86 (3H, d, J=11.0, CH<sub>3</sub>N), 2.40 (2H, t, J=7.5, CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>), 1.89 (2H, qn, J=7.0, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)。

#### 实施例 2-4：半抗原 D 的合成

通过利用实施例 1 的方法，合成了半抗原 D (R<sub>1</sub>=乙基, R<sub>2</sub>=3,5,6-三氯-2-吡啶基, R<sub>3</sub>=氢且 R<sub>4</sub>=(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>)：向 3.52g 的 (20mmol) 的二氯硫代磷酸 O-乙基酯的 20mL 乙腈溶液中，加入溶解于 5mL 乙腈中的 10g 重质 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 和 3.00g(15mmol)3,5,6-三氯-2-吡啶酚并在室温下搅拌混合物 1 小时。然后，反应混合物用 cellite 过滤，蒸发溶剂，且残留物用于通过苯/己烷(1:1, v/v)平衡的硅胶柱层析，来获得 O-(3,5,6-三氯-2-吡啶基) 氯代硫代磷酸 O-乙基酯的油状化合物。所述化合物的产率为 65%且其 NMR 数据如下：

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDC13): δ 7.91(1H, d, J=1.3, ar), 4.52 (2H, qxd, J=11.0 & 7.1, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.51(3H, txd, J=7.1 & 1.1, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)。

由此获得的 0.50g(1.5mol) O-(3,5,6-三氯-2-吡啶基) 氯代硫代磷酸 O-乙基酯的 3ml 甲醇溶液，放入 4℃的冰水中，并搅拌 3 到 5 分钟徐徐加入 0.205g(3.23mmol)的 KOH 和 0.166g(1.6mmol)的氨基丁酸的 1.7mL 甲醇溶液。然后以和实施例 2-1 类似的方式合成半抗原 D, 产率为 54%，且 NMR 数据如下：

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDC1<sub>3</sub>): δ 7.85(1H, d, J=0.9, ar), 4.34 (2H, qxd, J=9.5 & 7.1, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.54(1H, m, NH), 3.25(2H, m, NHCH<sub>2</sub>), 2.51(2H, t, J=7.2, CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>), 1.93(2H, qn, J=6.9, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.41 (3H, t, J=7.1, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)。

#### 实施例 2-5：半抗原 E 的合成

通过利用实施例 1 的方法，合成半抗原 E(R<sub>1</sub>=乙基, R<sub>2</sub>=3,5,6-三氯-2-吡啶基, R<sub>3</sub>=氢且 R<sub>4</sub>=(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>)：0.50g(1.5mol)的 O-(3,5,6-三氯-2-吡啶基)氯代硫代磷酸 O-乙基酯的 3ml 甲醇溶液，放入 4℃的冰水中，并搅拌 5 分钟徐徐加入 0.205g(3.2mmol)的 KOH 和 0.210g(1.6mmol)的氨基

己酸的 1.7mL 的甲醇溶液。然后，以类似于实施例 2-1 的方式合成半抗原 E，其产率为 53% 且 NMR 数据如下：

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7.87(1H, d,  $J=1.0$ , ar), 4.36 (2H, qxd,  $J=9.6$  & 7.1,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 3.47(1H, m, NH), 3.19 (2H, m,  $\text{NHCH}_2$ ), 2.40 (2H, t,  $J=7.3$ ,  $\text{CH}_2\text{CO}_2$ ), 1.50 (6H, m,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2$ ), 1.43 (3H, t,  $J=7.1$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ )。

#### 实施例 2-6：半抗原 F 的合成

通过利用实施例 1 的方法，合成半抗原 F ( $R_1$ =乙基,  $R_2$ =3,5,6-三氯-2-吡啶基,  $R_3$ =甲基且  $R_4$ =( $\text{CH}_2$ )<sub>3</sub>): 0.50g(1.5mol)的 O-(3,5,6-三氯-2-吡啶基)氯代硫代磷酸 O-乙基酯的 3ml 甲醇溶液，放入 4°C 的冰水中，并搅拌 5 分钟徐徐加入 0.31g(4.8mmol) 的 KOH 和 0.166g(1.6mmol)的 4-(甲基氨基)丁酸(氯化物的盐)的 1.7mL 甲醇溶液。然后，以类似于实施例 2-1 的方式合成半抗原 F，其产率为 54% 且 NMR 数据如下：

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7.82(1H, s, ar), 4.36 (2H, qxd,  $J=8.7$  & 7.1,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 3.33 (2H, m,  $\text{NCH}_2$ ), 2.87 (3H, d,  $J=12.3$ ,  $\text{CH}_3\text{N}$ ), 2.46 (2H, t,  $\text{CH}_2\text{CO}_2$ ), 1.93 (2H, qn,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 1.43 (3H, t,  $J=7.1$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ )。

#### 实施例 2-7：半抗原 G 的合成

通过利用实施例 1 的方法，合成半抗原 G ( $R_1$ =乙基,  $R_2$ =2-(异丙氧基羰基)苯基,  $R_3$ =氢且  $R_4$ =CH ( $\text{CH}_3$ ) $\text{CH}_2$ ): 向 2.96g (17mmol)的二氯硫代磷酸 O-乙基酯的 10ml 乙腈溶液中，加入溶于 20ml 乙腈的 5g 重质  $\text{K}_2\text{CO}_3$  和 1.96g(11mmol)水杨酸异丙酯并在室温下搅拌混合物 40 分钟。然后，反应混合物用 cellite 过滤，蒸发溶剂，且残留物用于通过己烷/乙酸乙酯(10:1, v/v)平衡的硅胶柱层析，来获得 O[(2-异丙氧基羰基)苯基]氯代硫代磷酸 O-乙基酯的油状化合物。所述化合物的产率为 61% 且其 NMR 数据如下：

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.93(1H, dx,  $J=7.7$  & 1.2, ar), 7.55(1H, dx,  $J=8.5$  & 1.5, ar), 7.48(1H, txt,  $J=8.4$  & 1.6, ar), 7.32(1H,

txt,  $J=7.5$  &  $1.5$ , ar), 5.25(1H, sp,  $J=6.3$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$ ), 4.48(2H, q,  $J=7.1$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1.47 (3H, t,  $J=7.1$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1.38 (6H, d,  $J=6.3$ ,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ).

67mg(0.21mmol)的氯代硫代磷酸 O[(2-异丙氧基羰基)苯基]酯的 0.2mL 甲醇溶液, 放入  $4^\circ\text{C}$  的冰水中, 并搅拌 5 分钟徐徐加入 31mg(0.55mmol) 的 KOH 和 26mg (0.25mmol) DL-氨基丁酸的 0.26ml 甲醇溶液。反应溶液被灌注到分液漏斗中并通过加入 1N HCl 和氯仿提取产物。提取物通过  $\text{MgSO}_4$  脱水, 蒸发溶剂, 且残余物被用于通过氯仿:乙酸乙酯:乙酸(29:9:1, v/v/v)平衡的硅胶柱层析, 来获得表 2 中的半抗原 G。获得的半抗原 G 的产率为 66%且其 NMR 数据如下:

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.81(1H, dx d,  $J=8.9$  &  $1.2$ , ar), 7.60(1H, dxqn,  $J=8.2$  &  $1.5$ , ar), 7.48(1H, txt,  $J=7.9$  &  $1.8$ , ar), 7.21(1H, txt,  $J=7.5$  &  $1.1$ , ar), 5.25(1H, sp,  $J=6.2$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$ ), 4.29 (1H, q,  $J=9.5$ , NHCH), 4.20 (2H, q,  $J=7.1$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 3.97(1H, sp,  $J=6.0$ , NHCH), 2.45 (2H, t,  $J=6.3$ ,  $\text{CH}_2\text{CO}_2$ ), 1.38 (3H, t,  $J=7.0$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1.37 (6H, d,  $J=6.2$ ,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 1.31 (3H,  $\text{CHCH}_3$ ).

专利名称(译)	制备用于硫代磷酸酯杀虫剂免疫分析的半抗原的方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN100344640C</a>	公开(公告)日	2007-10-24
申请号	CN01823914.5	申请日	2001-12-29
[标]申请(专利权)人(译)	李庸泰		
申请(专利权)人(译)	李庸泰		
当前申请(专利权)人(译)	李庸泰		
[标]发明人	李庸泰 李惠成 金廷		
发明人	李庸泰 李惠成 金廷		
IPC分类号	C07F9/165 C07F9/24 C07F9/58 G01N33/53		
CPC分类号	C07F9/2458 G01N33/5308 C07F9/585 C07F9/58		
代理人(译)	杨青		
审查员(译)	潘剑		
优先权	1020010087382 2001-12-28 KR		
其他公开文献	CN1582293A		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明涉及一种制备用于硫代磷酸酯杀虫剂免疫分析的半抗原的方法，其包括步骤：将O-甲基(乙基)二氯硫代磷酸酯与酚类化合物反应来获得O-甲基(乙基)O-芳基氧硫代磷酸酯，并将获得的O-(甲基)乙基O-芳基氧硫代磷酸酯与氨基酸反应来产生目的半抗原。根据本发明，具有O-甲基(乙基)O-芳基-(羧基烷基)硫代氨基磷酸酯或O-甲基(乙基)O-芳基N-烷基-N-(羧基烷基)硫代氨基磷酸酯结构的半抗原可通过以有成本效益的方式利用两步处理法来高产率简单地进行制备。

