

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200510021054.7

[51] Int. Cl.  
C07F 9/655 (2006.01)  
G01N 33/53 (2006.01)  
G01N 21/76 (2006.01)

[43] 公开日 2006年12月13日

[11] 公开号 CN 1876663A

[22] 申请日 2005.6.9

[21] 申请号 200510021054.7

[71] 申请人 四川琢新生物材料研究有限公司

地址 610041 四川省成都市高新区高朋大道  
10号航利集团B座8楼

[72] 发明人 袁明龙 杜碧林 朱延新 郑玲

权利要求书1页 说明书4页

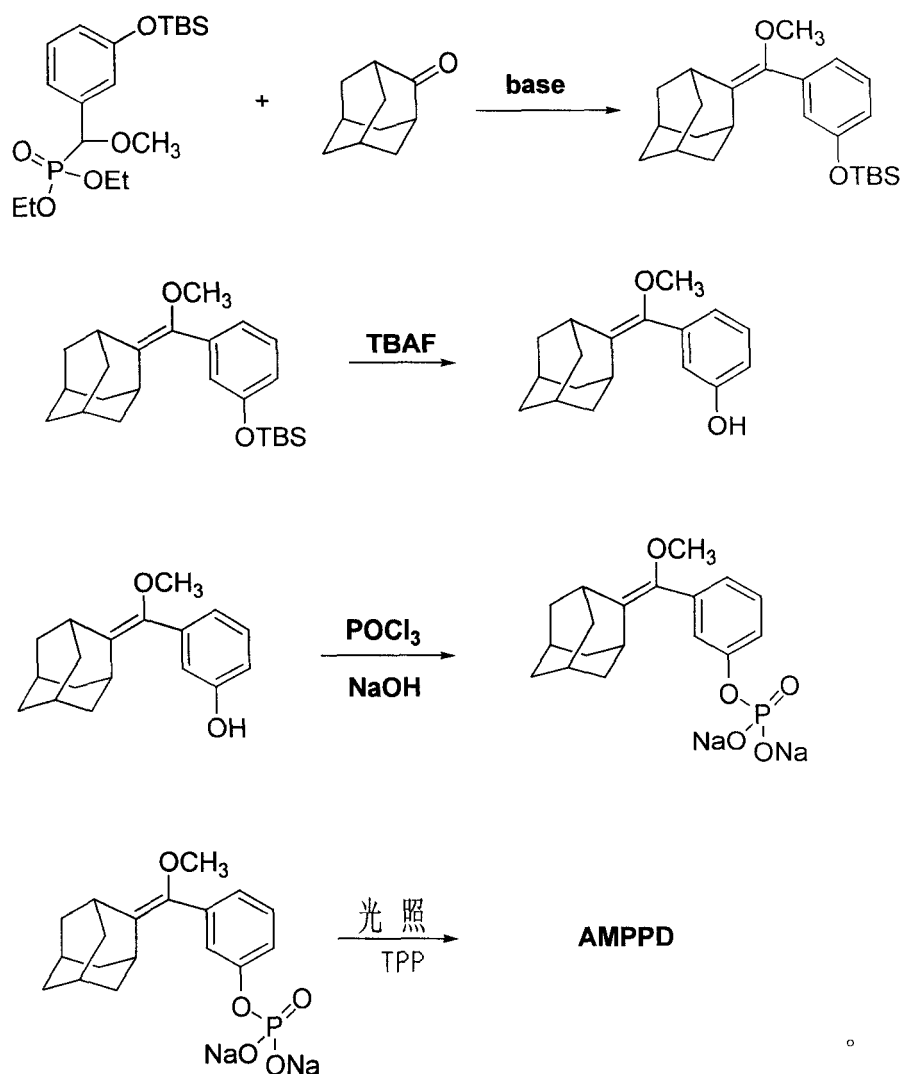
[54] 发明名称

化学发光试剂4-甲氧基-4-(3-磷酸酞苯基)螺[1,2-二氧环乙烷-3,2'-金刚烷],  
二钠盐(AMPPD)的合成新方法

[57] 摘要

本发明是一种化学发光试剂的制备新方法,特别是4-甲氧基-4-(3-磷酸酞苯基)螺[1,2-二氧环乙烷-3,2'-金刚烷],二钠盐(以下简称AMPPD)的合成新方法。该方法以3-二甲基叔丁基硅氧基-1-(1'-磷酸二乙酯基)-苄甲醚及2-金刚烷酮为原料,通过Wittig反应,制备得到[(3-二甲基叔丁基硅氧基苯基)甲氧基甲叉烷]金刚烷,在通过光氧化得到[(3-磷酸苯基)]甲氧基甲叉烷]金刚烷(AMPPD),可广泛用作化学发光免疫分析的发光底物。

1. 一种化学发光试剂的制备新方法，特别是 4-甲氧基-4-(3-磷酸酐苯基)螺[1,2-二氧环乙烷-3,2'-金刚烷]，二钠盐(以下简称 AMPPD)的合成新方法。该方法通过 Wittig 反应来形成双键而得到关键中间体取代苯基甲氧基甲叉金刚烷，然后通过常规的光氧化反应得到 AMPPD。
2. 根据权利要求 1 所述的化学发光试剂 AMPPD 的制备新方法，其特征在于以 3-二甲基叔丁基硅氧基-1-(1'-磷酸二乙酯基)-苄甲醚及 2-金刚烷酮为原料，通过 Wittig 反应，制备得到[(3-二甲基叔丁基硅氧基苯基)甲氧基甲叉]金刚烷，在通过光氧化得到[(3-磷酸苯基)]甲氧基甲叉]金刚烷 (AMPPD)，其制备技术路线如下：

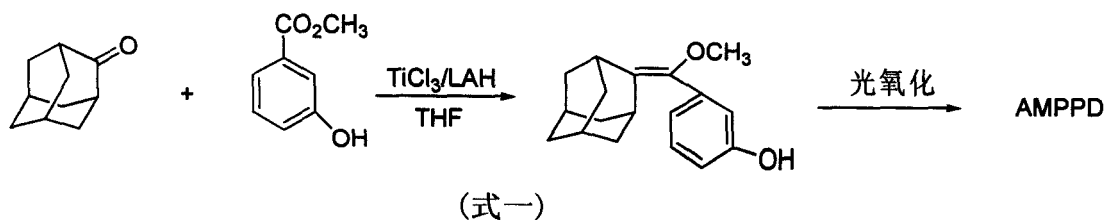


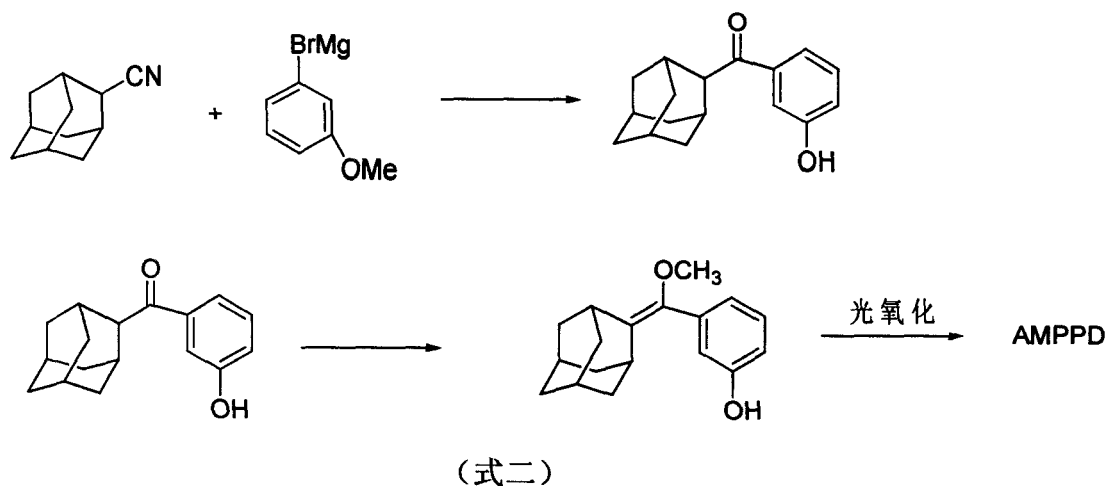
化学发光试剂 4-甲氧基-4-(3-磷酸酰苯基)螺[1,2-二氧环乙烷-3,2'-金刚烷],  
二钠盐 (AMPPD) 的合成新方法

本发明涉及化学发光试剂的制备新方法,特别是 4-甲氧基-4-(3-磷酸酰苯基)螺[1,2-二氧环乙烷-3,2'-金刚烷],二钠盐(以下简称 AMPPD)的合成新方法。

AMPPD 是碱性磷酸酶的化学发光底物,在适宜的缓冲液中,随着酶的催化水解作用,AMPPD 分解成 AMP-D,后者发出强度很高的光信号,其发光的速度取决于碱磷酶的浓度。当碱磷酶偶合到杂交的探针时,便可以通过此系统检测到杂交分子的存在量。目前已广泛用作化学发光免疫分析的发光底物,具有最高的检测灵敏度、适用于检测各种分子量的物质、稳定的发光底物、检测结果稳定,重复性好、检测线性范围宽、不需要特殊的发光底物-抗原/抗体连接物、方便,容易使用、可应用多种分析模式(夹心,竞争,抗体检测等)等优点,已在医学上推广使用。但由于其价格较高,限制了其大规模的发展使用。价格高的主要原因是该物质制备较为困难,合成工艺复杂。

目前其制备主要有两条路线,第一种是通过 2-金刚烷酮与 3-羟基苯甲酸甲酯在金属化合物的催化下形成双键而得到关键中间体取代苯基甲氧基甲叉基金刚烷,然后通过常规的光氧化反应得到 AMPPD(见式一)(美国专利,专利号 5582980;中国专利,专利号 CN 1040980A),该方法收率较低,分离纯化较为困难。第二种方法是通过金刚烷的氰化物与取代苯的格式试剂形成双键而得到关键中间体取代苯基甲氧基甲叉基金刚烷,然后通过常规的光氧化反应得到 AMPPD(见式二)(美国专利,专利号 4956477;美国专利,专利号 6417380;美国专利,专利号 6124478;欧洲专利,专利号 0582317 等),该方法流程太长,要用到剧毒的氰化物。





本发明的目的是提供一种化学发光试剂 AMPPD 的合成新方法。通过 Wittig 反应来形成双键而得到关键中间体取代苯基甲氧基甲叉基金刚烷, 然后通过常规的光氧化反应得到 AMPPD。

本发明是以 3-二甲基叔丁基硅氧基-1-(1'-磷酸二乙酯基)-苄甲醚及 2-金刚烷酮为原料, 通过 Wittig 反应, 制备得到[(3-二甲基叔丁基硅氧基苯基)甲氧基甲叉烷]金刚烷, 在通过光氧化得到 AMPPD, 反应流程如下(式三):

本发明的实施例如下:

#### 一、3-二甲基叔丁基硅氧基-1-(1'-磷酸二乙酯基)-苄甲醚的制备

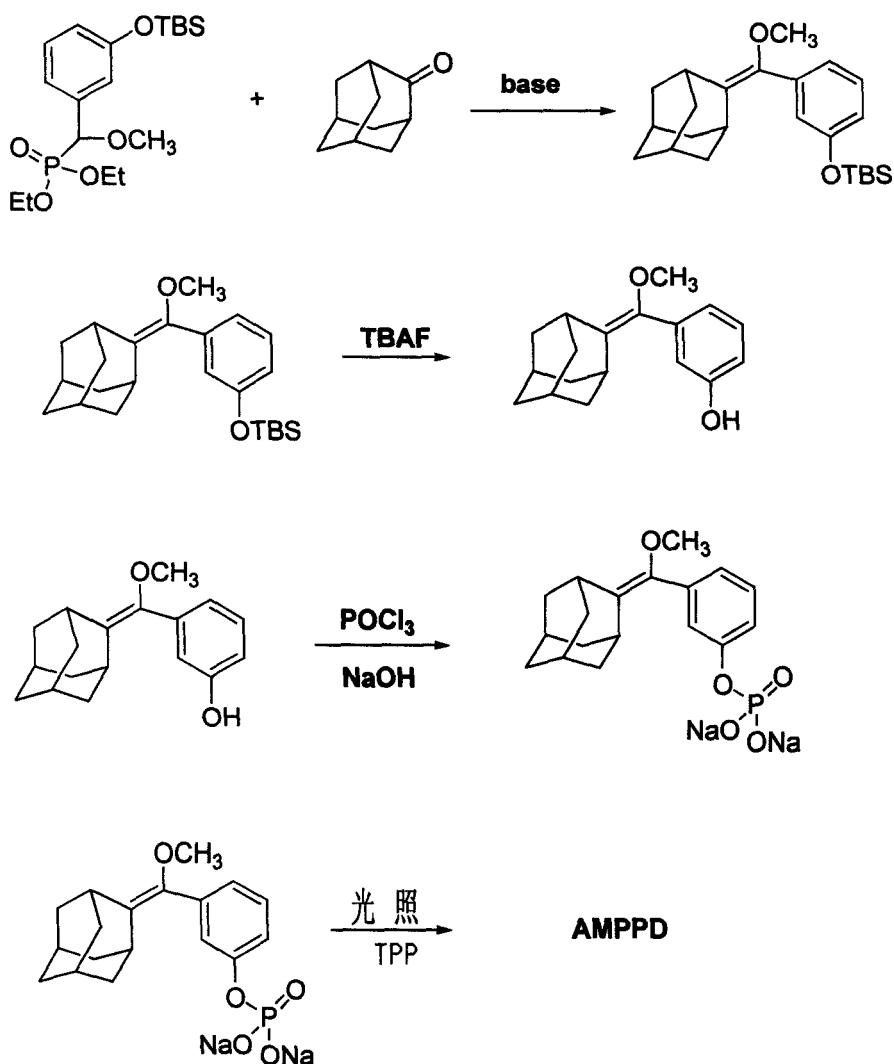
将 374 克 (1mol) 上述产物溶解再 500 毫升乙醇和 50 水的混合溶剂中, 搅拌溶解, 加入 80 克 (1.43mol) 氢氧化钾, 搅拌溶解得到澄清溶液。0-5 摄氏度下滴加 172.8 克 (1.2mol) 碘甲烷, 室温下搅拌 2 小时后, 再 60 摄氏度下反应 12 小时, 反应完后, 加水 1000 毫升, 用甲乙醚萃取, 合并有机相, 依次用 3N 的氢氧化钠溶液 500 毫升, 水洗到 PH7, 干燥过滤、浓缩、重结晶得到产物 310 克, 产率为 80%,  $^1\text{H NMR}$  ((300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.08 (s, 6H), 0.9 (s, 9H), 1.1 (t, 6H), 3.3 (s, 3H), 4.1 (q, 4H), 4.1 (s, 1H), 6.6-7.1 (m, 4H).).

#### 二、[(3-二甲基叔丁基硅氧基苯基)甲氧基甲叉烷]金刚烷的制备

将 388 克 (1mol) 上述产物和 150 克 (1mol) 的金刚烷酮依次加入到 2000 毫升的三口圆底烧瓶中, 加入 1000 毫升的干燥的四氢呋喃, 再加入 51 克的三乙胺, 搅拌溶解, 升温回流 24 小时后, TLC 检测反应结束, 将反应液转移到圆底烧瓶中, 减压浓缩除去三乙胺和溶剂得到产物 234 克, 产率为 61%,  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ( $\delta$  0.08 (s, 6H), 0.9 (s, 9H), 3.5 (s, 3H), 4.1 (s, 1H),

6.6-7.1 (m, 4H).

)。



(式三)

### 三、[(3-羟基苯基)甲氧基甲叉烷]金刚烷的制备

将 38.4 克 (0.1mol) 第二步产物溶解在 500 毫升的干燥的四氢呋喃中，然后滴加 1M 的四丁基氟化铵的四氢呋喃溶液 100 毫升，整个体系在室温下搅拌 30 分钟，然后倒入饱和的碳酸氢钠溶液 1000 毫升中，溶液用二氯甲烷 500 毫升萃取，有机相再用水 500 毫升洗，无水硫酸钠干燥后减压浓缩得到产品 21.6 克，产率为 80%， $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  1.64-1.96 (M, 12H), 2.65 (S, 1H), 3.24 (S, 1H), 3.32 (S, 3H), 6.7-7.3 (M, 4H)。

### 四、[(3-磷酸苯基)甲氧基甲叉烷]金刚烷二钠盐的制备

将第三步产物 (500 g, 1.58mol) 溶解在 5ml 无水吡啶 (用碱性氧化铝干燥) 中, 将该溶液慢慢加到由三氯氧磷 (1 什, 10.7mol) 和 5 什吡啶组成的冷却混合物, 其加料速度应将反应温度维持在 5°C 下, 三十分钟后, 终止反应, 并将二氯磷酰化产物倒在由 20kg 冰和 1 什 10N 氢氧化钠组成的混合物上, 将该混合物移至分液漏斗中, 用 5X30 什  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  进行洗涤, 在冰箱内过夜冷却后, 从水溶液中沉淀出产物, 先用 3X10 什冷水洗涤固体产物, 然后将该白色固体在减压下干燥, 得到 360g 产品,  $^1\text{H NMR } \delta$  : 1.67-1.83 (m, 12H), 2.50 (s, 1H), 3.04 (s, 1H), 3.19 (s, 3H), 6.7-7.2 (m, 4H)。

#### 五、4-甲氧基-4-(3-磷酸酰苯基)螺[1,2-二氧环乙烷-3,2'-金刚烷], 二钠盐 (AMPPD) 盐的制备

采用 1000 瓦的高压钠灯, 在 300ml  $\text{H}_2\text{O}/\text{P}$ -二噁烷 (1:1V/V) 中, 于 10°C, 将第三步产物 20g 溶解, 通氧气进行光氧化反应, 反应完后蒸出溶剂得初产品, 重结晶后得产品 16g。  $^1\text{H NMR } \delta$  : 0.91-1.70 (m, 12H), 2.08 (s, 1H), 2.80 (s, 1H), 3.07 (s, 3H), 7.00-7.26 (m, 4H)。

|                |   |         |            |
|----------------|---|---------|------------|
| 专利名称(译)        | 化学发光试剂4 - 甲氧基 - 4 - (3 - 磷酸酐苯基)螺[1,2 - 二氧环乙烷 - 3,2' - 金刚烷],二钠盐(AMPPD)的合成新方法 |         |            |
| 公开(公告)号        | <a href="#">CN1876663A</a>  | 公开(公告)日 | 2006-12-13 |
| 申请号            | CN200510021054.7  | 申请日     | 2005-06-09 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 四川琢新生物材料研究有限公司  |         |            |
| 申请(专利权)人(译)    | 四川琢新生物材料研究有限公司  |         |            |
| 当前申请(专利权)人(译)  | 四川琢新生物材料研究有限公司  |         |            |
| [标]发明人         | 袁明龙<br>杜碧林<br>朱延新<br>郑玲   |         |            |
| 发明人            | 袁明龙<br>杜碧林<br>朱延新<br>郑玲   |         |            |
| IPC分类号         | C07F9/655 G01N33/53 G01N21/76   |         |            |
| 外部链接           | <a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>                              |         |            |

#### 摘要(译)

本发明是一种化学发光试剂的制备新方法，特别是4 - 甲氧基 - 4 - (3 - 磷酸酐苯基)螺[1, 2 - 二氧环乙烷 - 3, 2' - 金刚烷]，二钠盐(以下简称AMPPD)的合成新方法。该方法以3 - 二甲基叔丁基硅氧基 - 1 - (1' - 磷酸二乙酯基) - 苄甲醚及2 - 金刚烷酮为原料，通过Wittig反应，制备得到[(3 - 二甲基叔丁基硅氧基苯基)甲氧基甲叉烷]金刚烷，在通过光氧化得到[(3 - 磷酸苯基)甲氧基甲叉烷]金刚烷(AMPPD)，可广泛用作化学发光免疫分析的发光底物。