

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-513159

(P2005-513159A)

(43) 公表日 平成17年5月12日(2005.5.12)

(51) Int. Cl.⁷

C07F 9/24

F I

C07F 9/24

Z

テーマコード(参考)

4H050

審査請求 有 予備審査請求 有 (全 14 頁)

(21) 出願番号	特願2003-556425 (P2003-556425)	(71) 出願人	504244243 リ, ヨンータエ
(86) (22) 出願日	平成13年12月29日 (2001.12.29)		大韓民国 706-795 タエグ, スス ング, フワンゲウムードン 282, シ ンチェオンジタウン 202-907
(85) 翻訳文提出日	平成16年8月23日 (2004.8.23)	(74) 代理人	100091096 弁理士 平木 祐輔
(86) 国際出願番号	PCT/KR2001/002301	(74) 代理人	100096183 弁理士 石井 貞次
(87) 国際公開番号	W02003/055895	(74) 代理人	100118773 弁理士 藤田 節
(87) 国際公開日	平成15年7月10日 (2003.7.10)	(74) 代理人	100122389 弁理士 新井 栄一
(31) 優先権主張番号	2001/87382		
(32) 優先日	平成13年12月28日 (2001.12.28)		
(33) 優先権主張国	韓国 (KR)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ホスホロチオエート類農薬の免疫分析的検出に利用されるハプテンの製造方法

(57) 【要約】

本発明は0-メチル(エチル)ジクロロチオリン酸エステルをフェノール化合物と反応させ、0-メチル(エチル)0-アリールクロロチオリン酸エステルを得た後、こうして得られた0-メチル(エチル)0-アリールクロロチオリン酸エステルをアミノカルボン酸と反応させ、ホスホロチオエート類農薬の免疫分析的検出に利用されるハプテンを製造する方法に関する。本発明によれば、ただ二つの段階の工程だけで0-メチル(エチル)0-アリールN-(カルボキシアルキル)ホスホルアミドチオエートまたは0-メチル(エチル)0-アリールN-アルキル-N-(カルボキシアルキル)ホスホルアミドチオエートの構造を持つハプテンを高い収率で製造することだけでなく、製造に必要な費用を減少させることができる。

【特許請求の範囲】

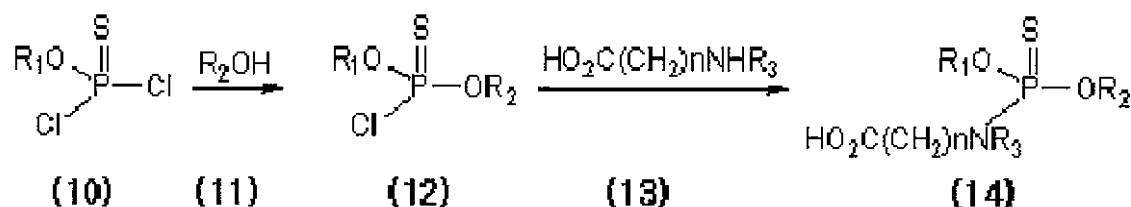
【請求項1】

次の各工程を含む有機燐系ホスホロチオエート類農薬の免疫分析的検出に利用されるハブテンの製造方法：

(i) アセトニトリル中で化合物(10)をフェノール化合物(11)及び K_2CO_3 と4 で30分ないし90分間反応させ、化合物(12)を得る工程；及び、

(ii) 化合物(12)をメタノール中で化合物(13)及び KOH と4 で3分ないし5分間反応させ、化合物(14)を得る工程。

【化1】



10

式中、

R_1 はメチル基またはエチル基であり；

R_2 はアリール基であり；

R_3 は水素原子またはアルキル基であり；及び、

R_4 はアルキリデン基である。

20

【請求項2】

ホスホロチオエート類農薬はフェンチオン、フェニトロチオン、パラチオン、パラチオン-メチル、プロモホス-メチル、プロモホス-エチル、クロロピリホス、クロロピリホス-メチル、クロロピリホス-エチル、ダイアジノン、ピリダフェンチオン、トリアゾホス、イソフェンホス、及びピリミホスから成る群から選択される1種の物質であることを特徴とする、請求項1に記載の有機燐系ホスホロチオエート類農薬の免疫分析的検出に利用されるハブテンの製造方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

30

【0001】

本発明はホスホロチオエート類農薬の免疫分析的検出(immuoassay)に利用されるハブテンの製造方法に係り、さらに具体的に、本発明は0-メチル(エチル)ジクロロチオリン酸エステルをフェノール化合物と反応させ、0-メチル(エチル)0-アリールクロロチオリン酸エステルを得た後、得られた0-メチル(エチル)0-アリールクロロチオリン酸エステルをアミノカルボン酸と反応させ、有機燐系ホスホロチオエート類農薬の免疫分析的検出に利用されるハブテンを製造する方法に関する。

【背景技術】

【0002】

1930年代シュラダー(Schrader)が殺虫性の有機燐化合物を見つけて以来、有機塩素系農薬の使用が禁止されたことにより、生物学的力価が高い有機燐系農薬(organo-phosphorus pesticide)の開発が活発になった。今日、有機燐系農薬は現在使用中の農薬の大部分を占めているだけでなく、殺虫作用が検証された製品が約100,000個、市販されている製品だけでも100余個にのぼる。

40

【0003】

有機燐系農薬は燐(P)原子周りの構造により、リン酸エステル(phosphate)、ホスホロチオエート(phosphorothioate)、ホスホロチオール酸エステル(phosphorothiolate)、ホスホロジチオエート(phosphorodithioate)、ホスホン酸エステル(phosphonate)、ホスホノチオエート(phosphonothioate)、ホスホノジチオエート(phosphonodithioate)、ホスホロチオロチオエート(phosphorothiolothioate)、及びピロホスホルアミド(pyrophosphoram

50

ide)類などに分類され(表1参照)、この中農業で一番重要とされるものはホスホロチオエート類とホスホロジチオエート類であり、残留農薬分析の主要対象になっている。

【0004】

残留農薬の分析は主にガスクロマトグラフィー(GC)または高性能液体クロマトグラフィー(HPLC)などにより遂行されているが、これらクロマトグラフィー方法は長期間の前処理過程と高価な器機、専門的技術を持った人力などを要するだけでなく、GCの場合不安定な物質の分析は不可能で、HPLCの場合は発色団のない農薬は検出が難しいという短所を持っている。このような問題点を解決するため、主に生体成分の分析や臨床診断に利用された免疫分析法(immunoassay)を残留農薬の分析に適用させようとする試みが1970年代に始まった。免疫分析法による残留農薬の分析は感度が非常に高く、試料の前処理過程が不必要であり、多数の試料を同時に速かに分析することができるので費用が少ししかかからないという長所がある。

10

【0005】

免疫分析は抗体と抗原の間の特異的で親和力が高い結合に依拠した分析法なので、分析物質に対する抗体を生産するためには適切な抗原を用意すべきである。しかし、農薬のような低分子物質はそれ自体が抗原として作用することができないので、抗体の生産が不可能である。従って、農薬に特異的な抗原を合成するには、農薬と構造が類似であり、タンパク質と共有結合することができる原子団を持った物質、すなわち、ハプテン(hapten)の合成が要求される。また、競争的免疫分析法で使われる競争相手であるコーティング抗原及び酵素トレーサー(enzyme tracer)の製造のためにもハプテンの合成が要求される。

20

【表1】

表1 有機燐系農薬の分類

分類	構造	例
リン酸エステル	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{RO}-\text{P}-\text{O}-\text{X} \\ \diagup \\ \text{RO} \end{array}$	ジクロルボス (dichlorvos)
ホスホロチオエート	$\begin{array}{c} \text{S} \\ \parallel \\ \text{RO}-\text{P}-\text{O}-\text{X} \\ \diagup \\ \text{RO} \end{array}$	パラチオン (parathion)
ホスホロチオール酸エステル	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{RO}-\text{P}-\text{S}-\text{X} \\ \diagup \\ \text{RO} \end{array}$	オメトエート (omethoate)
ホスホロジチオエート	$\begin{array}{c} \text{S} \\ \parallel \\ \text{RO}-\text{P}-\text{S}-\text{X} \\ \diagup \\ \text{RO} \end{array}$	馬拉チオン (malathion)
ホスホン酸エステル	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{RO}-\text{P}-\text{O}-\text{X} \\ \diagup \\ \text{R} \end{array}$	トリクロルホン (trichlorfon)
ホスホノチオエート	$\begin{array}{c} \text{S} \\ \parallel \\ \text{RO}-\text{P}-\text{O}-\text{X} \\ \diagup \\ \text{R} \end{array}$	EPN
ホスホノジチオエート	$\begin{array}{c} \text{S} \\ \parallel \\ \text{RO}-\text{P}-\text{S}-\text{X} \\ \diagup \\ \text{R} \end{array}$	ホンホス (fonfos)
ホスホノチオールチオナート	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{RS}-\text{P}-\text{O}-\text{X} \\ \diagup \\ \text{RS} \end{array}$	エトプロプ (ethoprop)
ホスホノアミド酸エステル	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}_2\text{N}-\text{P}-\text{X} \\ \diagup \\ \text{R}_2\text{N} \end{array}$	ジメホックス (dimefox)

10

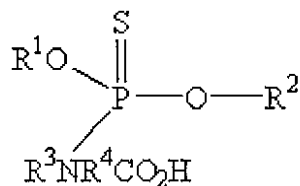
20

30

40

一般的に、ホスホロチオエート類農薬の免疫分析的検出に利用されるハプテンは次のような構造を持つ。

【化1】



【0006】

式中、

R¹はメチル基またはエチル基であり；

R²はアリール基であり；

R³は水素原子またはアルキル基であり；及び、

R⁴はアルキリデン基である。

10

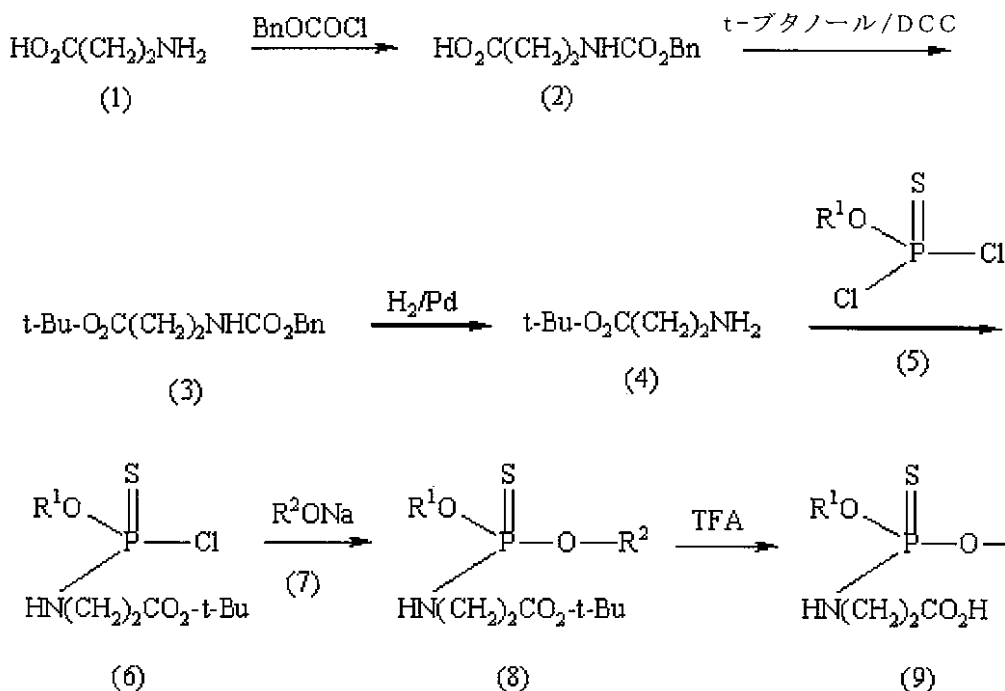
【0007】

前記構造のハブテンの中で、R³が水素原子で、R⁴が2個または5個のメチルレン基であるハブテンは下記のように、(i) 3-アミノプロパン酸エステル(1)をベンジルクロロギ酸と反応させ、3-(ベンジルオキシカルボニルアミノ)プロパン酸エステル(2)を得る工程；(ii) 前記得られた3-(ベンジルオキシカルボニルアミノ)プロパン酸エステル(2)をジシクロヘキサカルボジイミド(DCC)の存在下でtert-ブタノールと反応させ、tert-ブチル3-(ベンジルオキシカルボニルアミノ)プロパン酸エステル(3)を得る工程；(iii) 前記得られたtert-ブチル3-(ベンジルオキシカルボニルアミノ)プロパン酸エステル(3)のアミノ基の保護基を触媒を利用した水素添加(hydrogenation)により離脱させ、tert-ブチル3-アミノプロパン酸エステル(4)を得る工程；(iv) 前記得られたtert-ブチル3-アミノプロパン酸エステル(4)を0-アルキルジクロロチオリン酸エステル(5)と反応させ、tert-ブチル3-[クロロ(メトキシル)-ホスホルチオイル-アミノ]-プロパン酸エステル(6)を得る工程；(v) 前記得られたtert-ブチル3-[クロロ(メトキシル)-ホスホルチオイル-アミノ]-プロパン酸エステル(6)をフェノールのナトリウム塩(7)と反応させ、0-アルキル0-アリールN-[[2-[tert-ブチルオキシ]カルボニル]エチル]ホスホルアミドチオエート(8)を得る工程；及び、(vi) 前記得られた0-アルキル0-アリールN-[[2-[tert-ブチルオキシ]カルボニル]エチル]ホスホルアミドチオエート(8)のtert-ブチルの保護基をトリフルオロ酢酸(TFA)により除去し、0-アルキル0-アリールN-(2-カルボキシエチル)ホスホルアミドチオエート(9)を得る工程を含む方法を通じて合成される。

20

30

【化2】



10

20

【0008】

前記方法で合成された0-アルキル0-アリールN-(2-カルボキシエチル)ホスホルアミドチオエートはホスホロチオエート類農薬に対する抗体形成において非常に望ましいハプテンであることが知られている。しかし、前記方法は、非常に複雑で、時間と費用がかかり、収率が低いという短所があることが分かった。

【発明の開示】

【0009】

したがって、ホスホロチオエート類農薬の免疫分析的検出に利用されるハプテンをより効率的に製造できる方法を開発すべき必要性が強い。

【0010】

本発明者らは、ホスホロチオエート類農薬の免疫分析的検出に利用されるハプテンをより効率的に製造することができる方法を開発しようと鋭意努力した結果、0-メチル(エチル)クロロチオリン酸エステルをフェノール化合物と反応させ、0-メチル(エチル)0-アリールクロロチオリン酸エステルを得た後、アミノカルボン酸のカルボキシル基を保護しないまま前記得られた0-メチル(エチル)0-アリールクロロチオリン酸エステルと反応させれば、0-メチル(エチル)0-アリールN-(カルボキシアリル)ホスホルアミドチオエートまたは0-メチル(エチル)0-アリールN-アルキル-N-(カルボキシアリル)ホスホルアミドチオエートの構造を持つハプテンを製造することができることを確認した。

30

【0011】

つまり、本発明の目的は有機燐系ホスホロチオエート類農薬の免疫分析的検出に利用されるハプテンの製造方法を提供するところにある。

40

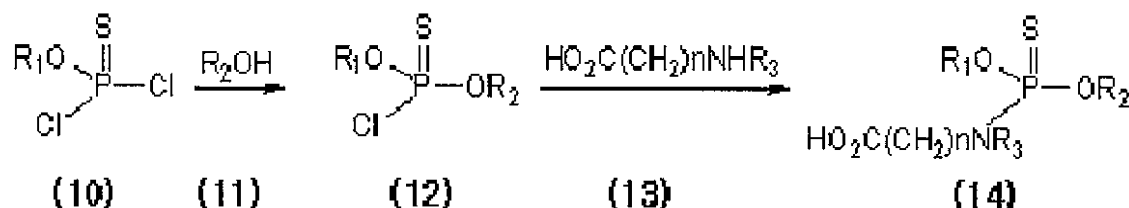
【0012】

本発明の有機燐系ホスホロチオエート類農薬の免疫分析的検出のためのハプテンの製造方法は、(i) アセトニトリル中で化合物(10)をフェノール化合物(11)及び K_2CO_3 と4で30分ないし90分間反応させ、化合物(12)を得る工程;及び、(ii) この化合物(12)をメタノール中で化合物(13)及び KOH と4で3分ないし5分間反応させ、化合物(14)を得る工程を含む。この際、ホスホロチオエート類農薬はフェンチオン(penthion)、フェニトロチオン(penitrothion)、パラチオン(parathion)、パラチオン-メチル、プロモホス-メチル(bromofos-methyl)、プロモホス-エチル、クロロピリホス(chloropyrifos)、クロロピリホス-メチル、クロロピリホス-エチル、ダイアジノン(diazinon)、ピリダフェンチオン(pyridapent

50

hion)、トリアゾホス(triazofos)、イソフェンホス(isopenfos)またはピリミホス(pyrimifos)を含む。

【化3】



10

【0013】

式中、

R₁はメチル基またはエチル基であり；

R₂はアリール基であり；

R₃は水素原子またはアルキル基であり；及び、

R₄はアルキリデン基である。

【実施例】

【0014】

以下、実施例を通して本発明をさらに詳述する。これら実施例はただ本発明をさらに具体的に説明するためのもので、本発明の範囲がこれら実施例により限られないことは当業界にとって自明であろう。

20

【0015】

実施例1：ホスホロチオエート類農薬の免疫分析的検出に利用されるハプテンの製造

0-メチル(エチル)ジクロロチオリン酸エステルをフェノールと反応させて合成した0-メチル(エチル)0-アリールクロロチオリン酸エステルをアミノカルボン酸と反応させ、ホスホロチオエート類農薬の免疫分析的検出に利用されるハプテンを製造した：46.28mmolの0-メチル(エチル)ジクロロチオリン酸エステル(10)を30mLのアセトニトリルに溶解させ、45gの粉碎したK₂CO₃及び30mLのアセトニトリルに溶解させた42.07mmolのフェノール(11)を添加した後、室温で1時間の間攪拌した。その後、反応溶液をセライト(cellite)を利用して濾過し、濾液の溶媒を揮発させた後、残留物をベンゼン/ヘキサン(1:1、v/v)溶媒またはヘキサン/エチル酢酸(10:1、v/v)溶媒で平衡化したシリカゲルカラムクロマトグラフィーに適用させてオイル形態の化合物である0-メチル(エチル)0-アリールクロロチオエート(12)を得た。

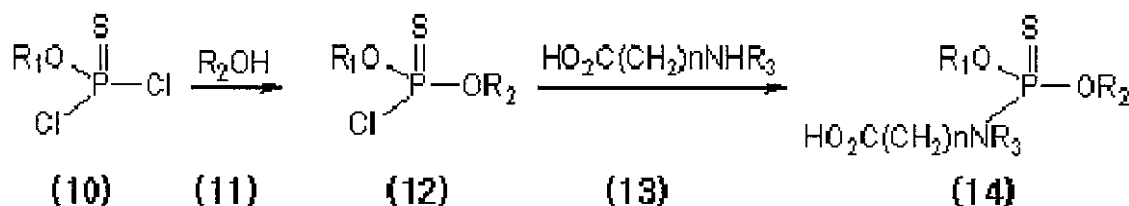
30

【0016】

2.1mmolの前記で得られた0-メチル(エチル)0-アリールクロロチオエート(12)をメタノールに溶解させ、4の氷水に入れた後、5.2mmol(292mg)のKOH及び2.6mmolのアミノカルボン酸(13)を1.7mLのメタノールに溶解させた溶液を加えながら3ないし5分間攪拌した。このメタノール溶液の製造の時、アミノカルボン酸が塩酸塩の場合にはアミノカルボン酸に対してKOHの量を3倍にした。反応溶液を分別漏斗に注ぎ、1N HCl及びクロロホルムで抽出し、MgSO₄で脱水させた後、残余溶媒を揮発させ、残留物をクロロホルム：酢酸エチル：酢酸(65:35:1、v/v/v)溶媒で平衡化したシリカゲルカラムクロマトグラフィーに適用させ、ホスホロチオエート類農薬の免疫分析的検出に利用される化合物(14)を得た。下記の化学反応式で、R₁はメチル基またはエチル基で、R₂はアリール基であり、R₃は水素原子またはアルキル基であり、R₄はアルキリデン基である。

40

【化4】



【0017】

実施例2：ホスホロチオエート類農薬の免疫分析的検出に利用されるハプテンの合成

前記実施例1の方法を利用し、パラチオン-メチル、クロロピリホス及びイソフェンホスなどのホスホロチオエート類農薬の免疫検出のための多様な置換基 R_1 、 R_2 、 R_3 及び R_4 を有するハプテンを合成した。次の表2はホスホロチオエート類農薬の検出のための多様なハプテンの構造を表わし、Phはベンゼン環を表わし、Pyrはピリジニル基を表わす。

【表2】

表2 ホスホロチオエート類農薬の検出のための多様なハプテンの構造

	ホスホロチオエート類 農薬	R_1	R_2	R_3	R_4
A	パラチオン-メチル	CH_3	Ph-p- NO_2	H	$-(\text{CH}_2)_3-$
B	パラチオン-メチル	CH_3	Ph-p- NO_2	H	$-(\text{CH}_2)_5-$
C	パラチオン-メチル	CH_3	Ph-p- NO_2	CH_3	$-(\text{CH}_2)_3-$
D	クロロピリホス	CH_3CH_2	Pyr-(3, 5, 6-トリクロロ)	H	$-(\text{CH}_2)_3-$
E	クロロピリホス	CH_3CH_2	Pyr-(3, 5, 6-トリクロロ)	H	$-(\text{CH}_2)_5-$
F	クロロピリホス	CH_3CH_2	Pyr-(3, 5, 6-トリクロロ)	CH_3	$-(\text{CH}_2)_3-$
G	イソフェンホス	CH_3CH_2	Ph-o- $\text{CO}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	H	$-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$

【0018】

合成されたハプテンの ^1H NMR分析を行ない、合成されたハプテンが前記表2の構造に符合することを確認した。 ^1H NMRスペクトルで、化学シフト値はテトラメチルシランからのシフト値で、ppmで表わし、結合定数値(J)は Hzで表わし、sはsinglet、dはdoublet、tはtriplet、qはquartet、qnはquintet、sextはsextet、splはseptet及びmはmultipletを表わす。

【0019】

実施例2-1：ハプテンAの合成

前記実施例1の方法を利用し、 R_1 =メチル基、 R_2 =アリール基、 R_3 =水素原子及び R_4 = $-(\text{CH}_2)_3-$ であるハプテンAを合成した。3.00g(21.6mmol)の0-メチルジクロロチオリン酸エステルを20mLのアセトニトリルに溶解させ、20gの粉碎した K_2CO_3 及び15mLのアセトニトリルに溶解させた3.00g(21.6mmol)の4-ニトロフェノールを添加した後、室温で1時間の間攪拌した。反応溶液をセライトを利用して濾過し、濾液の溶媒を揮発させた後、残留物をベンゼン/ヘキサン(1:1、v/v)溶媒で平衡化したシリカゲルカラムクロマトグラフィーに適用させオイル形態の化合物である0-メチル0-(4-ニトロフェニル)ホスホクロリドチオエートを得た。化合物の収率は70%であり、そのNMRデータは次の通りである。

【0020】

^1H NMR(300 MHz、 CDCl_3): 8.28(2H、d、 $J=6.1$ 、ar)、7.42(2H、d、 $J=7.2$ 、ar)、4.03(3H、d、 $J=16.5$ 、 CH_3OP)。

【0021】

500mg(1.87mmol)の前記で得られた化合物である0-メチル0-(4-ニトロフェニル)ホスホクロリドチオエートを3mLのメタノールに溶解させて、4の氷水に入れた後、274mg(4.88mmol)のKOH及び229mg(2.2mmol)のアミノ酪酸を1.7mLのメタノールに溶解させた溶液を

10

20

30

40

50

加えながら3ないし5分間攪拌した。前記攪拌した反応溶液を分別漏斗に盛り、1N HCl及びクロロホルムで生成物を抽出して、MgSO₄で脱水させた後、残余溶媒を揮発させ、残留物をクロロホルム:酢酸エチル:酢酸(65:35:1、v/v/v)溶媒で平衡化したシリカゲルカラムクロマトグラフィーに適用させ、表2のハプテンAを得た。前記得られたハプテンAの収率は81%であり、そのNMRデータは次の通りである。

【0022】

¹H NMR(300 MHz、CDCl₃): 8.24(2H、d、J=8.9、ar)、7.38(2H、d、J=8.3、ar)、3.81(3H、d、J=14.1、CH₃OP)、3.47(1H、qn、J=7.4、NH)、3.17(2H、sext、J=6.8、NCH₂)、2.46(2H、t、J=7.0、CH₂CO₂)、1.88(2H、qn、J=7.0、CH₂CH₂CH₂)。

【0023】

実施例2-2:ハプテンBの合成

前記実施例1の方法を利用し、R₁=メチル基、R₂=アリール基、R₃=水素原子及びR₄=-(CH₂)₆-であるハプテンBを合成した。500mg(1.87mmol)の前記で得られた化合物0-メチル0-(4-ニトロフェニル)ホスホクロリドチオエートを3mLのメタノールに溶解させ、4の氷水に入れた後、274mg(4.88mmol)のKOH及び291mg(2.2mmol)の6-アミノカプロン酸(aminocaproic acid)を1.7mLのメタノールに溶解させた溶液を加えながら3ないし5分間攪拌した。以後、前記実施例2-1と同様な方法で得られたハプテンBの収率は88%であり、そのNMRデータは次の通りである。

【0024】

¹H NMR(300 MHz、CDCl₃): 8.24(2H、d、J=8.9、ar)、7.37(2H、d、J=9.2、ar)、3.81(3H、d、J=14.2、CH₃OP)、3.34(1H、qn、J=7.3、NH)、3.09(2H、sext、J=6.9、NCH₂)、2.37(2H、t、J=7.3、CH₂CO)、1.68(2H、qn、J=7.6、NHCH₂CH₂)、1.56(2H、m、CH₂CH₂CO)、1.40(2H、m、CH₂CH₂CH₂)。

【0025】

実施例2-3:ハプテンCの合成

前記実施例1の方法を利用し、R₁=メチル基、R₂=アリール基、R₃=メチル基及びR₄=-(CH₂)₃-であるハプテンCを合成した。202mg(0.76mmol)の0-メチル0-(4-ニトロフェニル)ホスホクロリドチオエートを1.5mLのメタノールに溶解させ、4の氷水に入れた後、207mg(3.7mmol)のKOH及び154mg(1.0mmol)の4-(メチルアミノ)酪酸を1.5mLのメタノールに溶解させた溶液を加えながら5分間攪拌した。以後、前記実施例2-1と同様な方法で得られたハプテンCの収率は70%であり、そのNMRデータは次の通りである。

【0026】

¹H NMR(300 MHz、CDCl₃): 8.23(2H、d、J=9.0、ar)、7.31(2H、d、J=9.0、ar)、3.76(3H、d、J=14.1、CH₃OP)、3.36(2H、m、NCH₂)、2.86(3H、d、J=11.0、CH₃N)、2.40(2H、t、J=7.5、CH₂CO₂)、1.89(2H、qn、J=7.0、CH₂CH₂CH₂)。

【0027】

実施例2-4:ハプテンDの合成

前記実施例1の方法を利用し、R₁=エチル基、R₂=アリール基、R₃=水素原子及びR₄=-(CH₂)₃-であるハプテンDを合成した。3.52g(20 mmol)の0-エチルジクロロチオリン酸エステルを20mLのアセトニトリルに溶解させ、10gの粉碎したK₂CO₃及び5mLのアセトニトリルに溶解させた3.00g(15mmol)の3、5、6-トリクロロ-2-ピリジノールを添加した後、室温で1時間の間攪拌した。前記攪拌した反応溶液をセライトを利用して濾過し、濾液の溶媒を揮発させた後、残留物をベンゼン/ヘキサン(1:1、v/v)溶媒で平衡化したシリカゲルカラムクロマトグラフィーに適用させてオイル形態の化合物0-エチル0-(3,5,6-トリクロロ-2-ピリジニル)ホスホクロリドチオエートを得た。前記得られた化合物の収率は65%であり、そのNMRデータは次の通りである。

【0028】

¹H NMR(300 MHz、CDCl₃): 7.91(1H、d、J=1.3、ar)、4.52(2H、qxd、J=11.0 & 7.1、CH₂CH₃)、1.51(3H、txd、J=7.1 & 1.1、CH₂CH₃)。

【0029】

10

20

30

40

50

0.50g(1.47mol)の前記で得られた化合物0-エチル0-(3,5,6-トリクロロ-2-ピリジニル)ホスホクロリドチオエートを3mLのメタノールに溶解させ、4 の氷水に入れた後、0.205g(3.23mmol)のKOH及び0.166g(1.6mmol)のアミノ酪酸を1.7mLのメタノールに溶解させた溶液を加えながら3~5分間攪拌した。前記攪拌した反応溶液を分別漏斗に盛り、1N HCl及びクロロホルムで生成物を抽出し、MgSO₄で脱水させた後、残余溶媒を揮発させ、残留物をクロロホルム:酢酸エチル:酢酸(65:35:1、v/v/v)溶媒で平衡化したシリカゲルカラムクロマトグラフィーに適用させ、表2のハプテンDを得た。前記得られたハプテンDの収率は54%であり、そのNMRデータは次の通りである。

【0030】

¹H NMR(300 MHz, CDCl₃): 7.85(1H, d, J=0.9, ar), 4.34(2H, qxd, J=9.5 & 7.1, CH₂CH₃), 3.54(1H, m, NH), 3.25(2H, m, NHCH₂), 2.51(2H, t, J=7.2, CH₂CO₂), 1.93(2H, qn, J=6.9, CH₂CH₂CH₂), 1.41(3H, t, J=7.1, CH₂CH₃)。 10

【0031】

実施例2-5:ハプテンEの合成

前記実施例1の方法を利用し、R₁=エチル基、R₂=アリール基、R₃=水素原子及びR₄=-(CH₂)₆-であるハプテンEを合成した。0.50g(1.47mol)の前記で得られた化合物0-エチル0-(3,5,6-トリクロロ-2-ピリジニル)ホスホクロリドチオエートを3mLのメタノールに溶解させ、4 の氷水に入れた後、0.205g(3.23mmol)のKOH及び0.210g(1.6mmol)の6-アミノカプロン酸を1.7mLのメタノールに溶解させた溶液を加えながら5分間攪拌した。以後、前記実施例2-4と同様な方法で得られたハプテンEの収率は53%であり、そのNMRデータは次の通りである。 20

【0032】

¹H NMR(300 MHz, CDCl₃): 7.87(1H, d, J=1.0, ar), 4.36(2H, qxd, J=9.6 & 7.1, CH₂CH₃), 3.47(1H, m, NH), 3.19(2H, m, NHCH₂), 2.40(2H, t, J=7.3, CH₂CO₂), 1.50(6H, m, CH₂(CH₂)₃CH₂), 1.43(3H, t, J=7.1, CH₂CH₃)。 20

【0033】

実施例2-6:ハプテンFの合成

前記実施例1の方法を利用し、R₁=エチル基、R₂=アリール基、R₃=水素原子及びR₄=-(CH₂)₃-であるハプテンFを合成した。0.50g(1.47mol)の前記で得られた化合物0-エチル0-(3,5,6-トリクロロ-2-ピリジニル)ホスホクロリドチオエートを3mLのメタノールに溶解させ、4 の氷水に入れた後、0.205g(3.23mmol)のKOH及び0.166g(1.61mmol)の4-(アミノ)酪酸を1.7mLのメタノールに溶解させた溶液を加えながら5分間攪拌した。以後、前記実施例2-4と同様な方法で得られたハプテンFの収率は54%であり、そのNMRデータは次の通りである。 30

【0034】

¹H NMR(300 MHz, CDCl₃): 7.82(1H, s, ar), 4.36(2H, qxd, J=8.7 & 7.1, CH₂CH₃), 3.33(2H, m, NCH₂), 2.87(3H, d, J=12.3, CH₃N), 2.46(2H, t, CH₂CO₂), 1.93(2H, qn, CH₂CH₂CH₂), 1.43(3H, t, J=7.1, CH₂CH₃)。 30

【0035】

実施例2-7:ハプテンGの合成

前記実施例1の方法を利用し、R₁=エチル基、R₂=2-(イソプロピルオキシカルボニル)フェニル基、R₃=水素原子及びR₄=-CH(CH₃)CH₂-であるハプテンGを合成した。2.96g(17mmol)の0-エチルジクロロチオリン酸エステルを10mLのアセトニトリルに溶解させ、5gの粉碎したK₂CO₃及び20mLのアセトニトリルに溶解させた1.96g(11 mmol)のサリチル酸イソプロピルを添加した後、室温で40分間攪拌した。前記攪拌した反応溶液をセライトを利用して濾過し、濾液の溶媒を揮発させた後、残留物をヘキサン/酢酸エチル(10:1、v/v)溶媒で平衡化したシリカゲルカラムクロマトグラフィーに適用させてオイル形態の化合物0-エチル0-[(2-イソプロピルオキシカルボニル)フェニル]ホスホクロリドチオエートを得た。前記得られた化合物の収率は61%であり、そのNMRデータは次の通りである。 40

【0036】

^1H NMR(300 MHz, CDCl_3): 7.93(1H, dxd, $J=7.7$ & 1.2, ar)、7.55(1H, dxd, $J=8.5$ & 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, $J=7.1$, CH_2CH_3)、1.47(3H, t, $J=7.1$, CH_2CH_3)、1.38(6H, d, $J=6.3$, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$)。

【 0 0 3 7 】



67mg(0.21mmol)の前記で得られた化合物0-[(2-イソプロピルオキシカルボニル)フェニル]ホスホクロリドチオエートを0.2mLのメタノールに溶解させ、4 の氷水に入れた後、31mg(0.55mmol)のKOH及び26mg(0.25mmol)のDL-アミノ酪酸を0.26mLのメタノールに溶解させた溶液を加えながら5分間攪拌した。前記攪拌した反応溶液を分別漏斗に盛り、1N HCl及びクロロホルムで生成物を抽出し、 MgSO_4 で脱水させた後、残余溶媒を揮発させ、残留物をクロロホルム:酢酸エチル:酢酸(29:9:1, v/v/v)溶媒で平衡化したシリカゲルカラムクロマトグラフィーに適用させ、表2のハプテンGを得た。前記得られたハプテンGの収率は66%であり、そのNMRデータは次の通りである。

10

【 0 0 3 8 】

^1H NMR(300 MHz, CDCl_3): 7.81(1H, dxd, $J=8.9$ & 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, $J=7.1$, CH_2CH_3)、3.97(1H, sp, $J=6.0$, NHCH)、2.45(2H, t, $J=6.3$, CH_2CO_2)、1.38(3H, t, $J=7.0$, CH_2CH_3)、1.37(6H, d, $J=6.2$, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$)、1.31(3H, CHCH_3)。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/KR01/02301
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC7 C07F 9/165		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 07 C07F 9/165		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean Patents and applications for inventions since 1975, Korean Utility models and applications for Utility models since 1975 Japanese Utility models and applications for Utility models since 1975		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CAS Online(STN), Medline		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5830770 A (THE MINISTER OF AGRICULTURE FISHERIES AND FOOD IN HER BRITANNIC MAJESTY'S GOVERNMENT OF THE U.K. OF Gt. BRITAIN & N. IRELAND) 3 November 1998 See the whole document	1-2
A	JP 11-140100 A (KANKYO MENEKI GI JUTSU KENKYUSHO:KK) 25 MAY 1999 See the whole document	1-2
A	JP 11-255786 A (KANKYO MENEKI GI JUTSU KENKYUSHO:KK) 21 SEPTEMBER 1999 See the whole document	1-2
A	M.J.C. ALCOCKER, et al., 'Use of phosphonic Acid as a Generic Hapten in the Production of Broad Specificity Anti-Organophosphate Pesticide Antibody', Journal of Agricultural and Food Chemistry, American Chemical Society, 2000, Vol.48, No.6, p.2228-33 See the whole document	1-2
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 13 SEPTEMBER 2002 (13.09.2002)		Date of mailing of the international search report 13 SEPTEMBER 2002 (13.09.2002)
Name and mailing address of the ISA/KR  Korean Intellectual Property Office 920 Dunsan-dong, Seo-gu, Daejeon 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140		Authorized officer KIM, Hee Jin Telephone No. 82-42-481-5543 

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/KR01/02301

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5830770 A	03/11/98	GB 9522508 A0 JP 8510231 T2 DE 69409643 T2 EP 699305 B1	03/01/96 29/10/96 06/08/98 15/04/98
JP 11-140100 A	25/05/99	None	
JP 11-255786 A	21/09/99	None	

 フロントページの続き

(81) 指定国 AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW

特許法第30条第1項適用申請有り 平成13年6月30日 大韓民国慶北大学校博士論文「フェンチオンに対するELISAの開発」にて発表

(72) 発明者 リ, ヨン - タエ

大韓民国 706 - 795 タエグ, ススン - グ, フワンゲウム - ドン 282, シンチェオンジ
タウン 202 - 907

(72) 発明者 リ, ヒエ - スン

大韓民国 706 - 795 タエグ, ススン - グ, フワンゲウム - ドン 282, シンチェオンジ
タウン 202 - 907

(72) 発明者 キム, ヨー - ジュン

大韓民国 706 - 832 タエグ, ススン - グ, ススン - 1 - ガ 613, シンセギェタウン
8 - 202

Fターム(参考) 4H050 AA02 AB01 WA15 WA27

专利名称(译)	用于免疫分析检测硫代磷酸酯和农药的半抗原的制备方法		
公开(公告)号	JP2005513159A	公开(公告)日	2005-05-12
申请号	JP2003556425	申请日	2001-12-29
[标]申请(专利权)人(译)	Riyontae		
申请(专利权)人(译)	黎勇 - 泰		
[标]发明人	リヨンタエ リヒエスン キムヨージュン		
发明人	リ,ヨン-タエ リ,ヒエ-スン キム,ヨー-ジュン		
IPC分类号	C07F9/165 C07F9/24 C07F9/58 G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/5308 C07F9/2458 C07F9/58		
FI分类号	C07F9/24.Z		
F-TERM分类号	4H050/AA02 4H050/AB01 4H050/WA15 4H050/WA27		
代理人(译)	荒井英一		
优先权	1020010087382 2001-12-28 KR		
其他公开文献	JP2005513159A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

在本发明中，O-甲基(乙基)O-芳基氧硫代磷酸酯是通过使O-甲基(乙基)二氧硫代磷酸酯与酚化合物反应，然后O-甲基(乙基)O-反应得到的。使芳基氧硫代磷酸酯与氨基羧酸反应以制备用于免疫测定硫代磷酸酯杀虫剂的半抗原的方法。根据本发明，仅O-甲基(乙基)O-芳基N-(羧烷基)硫代氨基硫酸盐或O-甲基(乙基)O-芳基N-烷基-N-具有半抗原结构的(羧基烷基)硫代磷酰胺不仅收率高，而且可以降低生产所需的成本。

		(43) 公表日	平成17年5月12日(2005. 5. 12)
(51) Int. Cl. 7	C07F 9/24	FI	C07F 9/24 Z
		テーマコード(参考)	4H050
		審査請求有	予備審査請求有 (全14)
(21) 出願番号	特願2003-556425 (P2003-556425)	(71) 出願人	504244243
(86) (22) 出願日	平成13年12月28日(2001.12.28)		リ, ヨン-タエ
(85) 翻訳文提出日	平成16年8月23日(2004.8.23)		大韓民国 706-795 タエグ,
(86) 国際出願番号	PCT/KR2001/002301		ン-グ, フワンゲウム-ドン 282
(87) 国際公開番号	WO2003/055895		ンチェオンジタウン 202-907
(87) 国際公開日	平成15年7月10日(2003.7.10)	(74) 代理人	100091096
(31) 優先権主張番号	2001/87382		弁理士 平木 祐輔
(32) 優先日	平成13年12月28日(2001.12.28)	(74) 代理人	100096183
(33) 優先権主張国	韓国 (KR)		弁理士 石井 貞次
		(74) 代理人	100118773
			弁理士 藤田 郎
		(74) 代理人	100122389
			弁理士 新井 栄一

(54) 【発明の名称】 ホスホロチオエート類農薬の免疫分析的検出に利用されるハブテンの製造方法