

(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2014-502352

(P2014-502352A)

(43) 公表日 平成26年1月30日 (2014.1.30)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/15 (2006.01)	GO 1 N 33/15 C	4 B O 6 3
C 1 2 Q 1/26 (2006.01)	C 1 2 Q 1/26	
C 1 2 Q 1/44 (2006.01)	C 1 2 Q 1/44	
GO 1 N 33/18 (2006.01)	GO 1 N 33/18 B	
GO 1 N 33/14 (2006.01)	GO 1 N 33/14	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 16 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2013-540354 (P2013-540354)	(71) 出願人	501105842
(86) (22) 出願日	平成23年11月24日 (2011.11.24)		ジボダン エス エー
(85) 翻訳文提出日	平成25年7月23日 (2013.7.23)		スイス国 1 2 1 4 ヴェルニエ、 シュ
(86) 国際出願番号	PCT/EP2011/070906		マン ド ラ パルフュムリー 5 番
(87) 国際公開番号	W02012/069571	(74) 代理人	100102842
(87) 国際公開日	平成24年5月31日 (2012.5.31)		弁理士 葛和 清司
(31) 優先権主張番号	61/416, 902	(74) 代理人	100135943
(32) 優先日	平成22年11月24日 (2010.11.24)		弁理士 三橋 規樹
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(72) 発明者	アン, キ チャン
			アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 5
			6 1 8、デイヴィス、ドノヴァン コート
			7 2 0

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 タイプ I I ピレスロイドの存在を決定するためのインビトロでの方法

(57) 【要約】

サンプル中のタイプ I I ピレスロイド化合物の存在を決定するためのインビトロでの方法であって、サンプルをタイプ I I ピレスロイド化合物が 3-フェノキシ安息香酸または 4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸に転換する加水分解および酸化などの条件にサンプルをさらし、続いてサンプルをこれらの酸の存在について GC、LC、HPLC、MS、免疫測定法またはこれらの組みあわせによって分析する、前記方法。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

サンプル中のタイプ I I ピレスロイド化合物の存在を決定するためのインビトロでの方法であって、

I. サンプル中のタイプ I I ピレスロイド化合物を 3-フェノキシ安息香酸または 4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸に転換する条件にサンプルをさらし、

I I. 続いてサンプルを 3-フェノキシ安息香酸および／または 4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸の存在について分析する、
工程を含む、前記方法。

【請求項 2】

タイプ I I ピレスロイド化合物を 3-フェノキシ安息香酸または 4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸に転換する条件にサンプルをさらす前にサンプル中の 3-フェノキシ安息香酸および／または 4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸の存在をはじめに決定する工程をさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

タイプ I I ピレスロイド化合物を 3-フェノキシ安息香酸または 4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸に転換する条件が、順に以下の工程：

I. α -シアノアルコールである α -ヒドロキシ-3-フェノキシベンゼンアセトニトリルまたは α -ヒドロキシ-4-フルオロ-3-フェノキシベンゼンアセトニトリルを形成するための、塩基性または酸性条件下でのタイプ I I ピレスロイドエステル基の加水分解

I I. α -ヒドロキシ-3-フェノキシベンゼンアセトニトリルまたは α -ヒドロキシ-4-フルオロ-3-フェノキシベンゼンアセトニトリルの 3-フェノキシ安息香酸または 4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸への酸化

I I I. 工程 I I において用いた酸化剤の任意の中和、
を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

加水分解を塩基性条件下で行う、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

加水分解を水酸化ナトリウム水溶液を用いて行う、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

酸化を過酸化水素を用いて行う、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 7】

加水分解を酵素的に行う、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 8】

酸化を酵素的に行う、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 9】

加水分解および酸化を同時に行う、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 10】

中和を白金触媒を用いて行う、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 11】

3-フェノキシ安息香酸および／または 4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸の存在の決定を、GC、LC、HPLC、MS、免疫測定法またはこれらの組みあわせによって行う、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 12】

3-フェノキシ安息香酸または 4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸の濃度の決定を ELISA によって行う、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 13】

サンプルが、水、果物および野菜抽出物、飲料、食品、食品添加物、フレーバー剤、フレグランス、作物分析、ハウスダスト、バイオソリッドおよび土壌サンプルからなる群から選択される、請求項 1 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 14】

サンプルが、かんきつ油サンプルである、請求項 1 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、サンプル中のタイプ I I ピレスロイド化合物の存在を決定するための方法に関する。

【背景技術】

【0002】

背景

タイプ I I ピレスロイド化合物は、たとえば、農業および林業などの幅広い種類の産業ならびに住宅環境における害虫駆除目的のために広く用いられている化学殺虫剤の大きなクラスである。それらは、すべてが合成エステル化合物であり、すべてがシアノ（CN）基を含む。

タイプ I I ピレスロイド化合物の限定されない例は、アクリナトリン、シペルメトリン、シフルトリン、シハロトリン、デルタメトリン、シフェノトリン、フェンバレラート、フェンプロパトリン、フルメトリン、フルシトリナート、フルバリナート、トラロメトリンを含む。

【0003】

タイプ I I ピレスロイド化合物は、毒性があり、ある場合には、発がん性がある。タイプ I I ピレスロイド化合物は、たとえばこのような化合物で処理された、汚染された水、果物および野菜またはそれらの抽出物を消費することによって、主に汚染食品および飲料の摂取を介して一般集団がさらされるために、食品産業においてとくに懸念される。

食品および水の汚染に対する懸念は、食品メーカーおよびそれらの供給者に水、食品および食品成分、たとえば、フレーバー付与剤（flavourant）などの添加物中のタイプ I I ピレスロイド化合物の存在をテストする必要性をもたらした。

【0004】

食品または水サンプルなどのサンプル中のタイプ I I ピレスロイド化合物の存在を決定するために、現在用いられている種々の分析技術がある。一般的な分析技術は、液体抽出などの抽出、続けてガスクロマトグラフィー（GC）、質量分析（MS）と組み合わせた液体クロマトグラフィー（LC）、または免疫化学的分析などを従来含む。

しかしながら、上の例示した公知の技術は、分析を 1 または 2 のタイプ I I ピレスロイド化合物のみに行うのには、効果的な一方で、決定が多数のタイプ I I ピレスロイド化合物に対して必要となると、時間がかかり、複雑で、高価なものになり得る。さらに、サンプルを汚染する特定のタイプ I I ピレスロイド化合物は、正確な分析を行うために、ある場合には、異性体レベルまで、すでに知られていなければならないことがしばしばある。これはとくに免疫測定分析の場合にあてはまる。

【0005】

多くの農薬製剤が多数のタイプ I I ピレスロイド化合物の混合を含み、サンプル、とくに食品および／または水サンプルが、どの農薬製剤に、したがってどのタイプ I I ピレスロイド化合物にさらされているか必ずしも知ることが可能ではないために、多数のタイプ I I ピレスロイド化合物のクラス全体とまではいかないまでもタイプ I I ピレスロイド化合物の分析を行うことがしばしば必要となり、その結果、労力および時間を要するプロセスを伴う。

したがって、サンプル中のクラス全体のタイプ I I ピレスロイド化合物の存在を決定するための単純で、コスト効率がよく時間効率のよい方法を開発することが有益であろう。

【発明の開示】

【0006】

詳細な説明

出願人は、サンプル中のタイプ I I ピレスロイド化合物の存在を種々の分析技術、とく

10

20

30

40

50

に免疫測定によって、タイプ I I ピレスロイド化合物が、3-フェノキシ安息香酸または4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸のいずれかに転換 (convert) するような条件にサンプルをさらし、続いて処理されたサンプルを3-フェノキシ安息香酸および／または4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸の存在について分析することによって、迅速に、容易におよび経済的に決定することができることを今や見出した。

4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸に転換され得る、フルメトリンおよびシフルトリンとして知られているタイプ I I ピレスロイド化合物を除いて、すべての現在知られているタイプ I I ピレスロイド化合物は3-フェノキシ安息香酸に転換され得る。

ここで用いられている用語「サンプル」は、タイプ I I ピレスロイド化合物を含み得るいずれの媒体、固体または液体をいう。サンプルの限定されない例は、水、果物および野菜抽出物、たとえばかんきつ油、飲料、あらゆる種類の食品、食品添加物、フレーバー剤、フレグランス、作物ホモジネート、ハウスダスト、バイオソリッドおよび土壌サンプルを含む。

【図面の簡単な説明】

【0007】

【図1】図1は、かんきつ油サンプル中に含まれるタイプ I I ピレスロイド化合物の3-フェノキシ安息香酸または4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸への転換のプロセスを示す図である。

【図2】図2は、オレンジ油からのピレスロイド化合物の転換／回収の割合を示す図である。

【図3】図3は、グレープフルーツおよびレモン油からのピレスロイド化合物の転換／回収の割合を示す図である。

【0008】

したがって、本発明の第一の態様は、サンプル中のタイプ I I ピレスロイド化合物の存在を決定するためのインビトロでの方法であって、

I. サンプル中に存在するタイプ I I ピレスロイド化合物を3-フェノキシ安息香酸または4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸に転換する条件にサンプルをさらし、

II. 続いてサンプルを3-フェノキシ安息香酸および／または4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸の存在について分析する、

工程を含む、前記方法を提供する。

かかる分析を受けるサンプルはすでに3-フェノキシ安息香酸および／または4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸を含み得る。そのような場合、タイプ I I ピレスロイド化合物の存在を決定するための方法は、3-フェノキシ安息香酸および／または4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸の濃度のあらゆる変化を検出するために転換の前後のサンプルを測定することによって決定することになる。

サンプル中のタイプ I I ピレスロイド化合物の転換後の3-フェノキシ安息香酸および／または4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸の濃度のいかなる増加も、サンプル中のタイプ I I ピレスロイドの存在を示すことになる。

【0009】

本発明の側面では、サンプル中のタイプ I I ピレスロイド化合物の存在を決定するためのインビトロでの方法であって、

I. サンプル中に存在する3-フェノキシ安息香酸および／または4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸の存在についてサンプル分析する、

II. サンプル中に存在するタイプ I I ピレスロイド化合物を3-フェノキシ安息香酸または4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸に転換する条件にサンプルをさらし、

III. 続いてサンプル中の3-フェノキシ安息香酸および／または4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸の存在または濃度の増加についてサンプル分析する、

工程を含む、前記方法を提供する。

タイプ I I ピレスロイド化合物は、商業的に入手可能な出発材料、試薬および溶媒を用いて種々の既知の方法によって3-フェノキシ安息香酸または4-フルオロ-3-フェノ

10

20

30

40

50

キシ安息香酸へ転換することができる。

【0010】

例示的態様では、以下の工程：

I. 対応する α -シアノアルコールである α -ヒドロキシ-3-フェノキシベンゼンアセトニトリルまたは α -ヒドロキシ-4-フルオロ-3-フェノキシベンゼンアセトニトリルを形成するための、塩基性または酸性条件下でのタイプIIピレスロイド化合物の加水分解

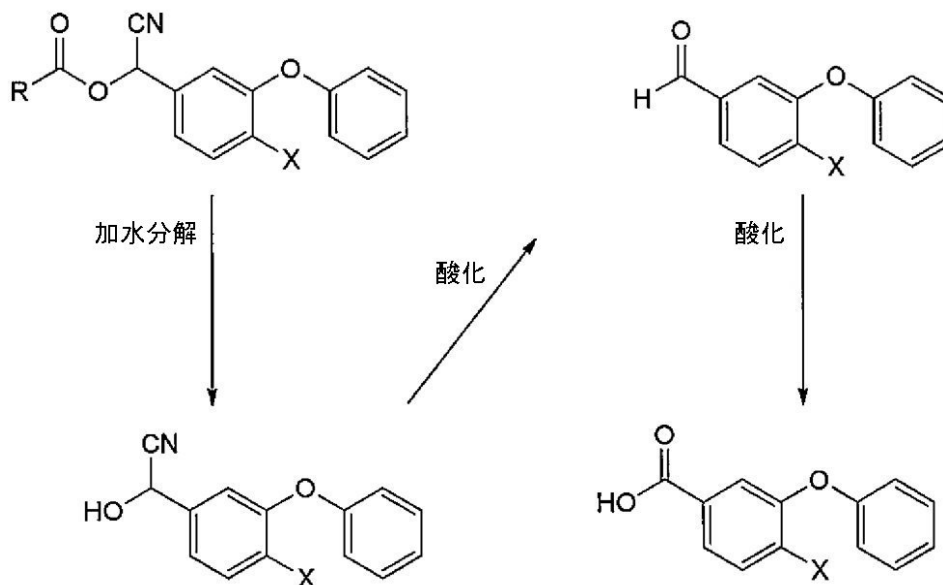
II. α -ヒドロキシ-3-フェノキシベンゼンアセトニトリルまたは α -ヒドロキシ-4-フルオロ-3-フェノキシベンゼンアセトニトリルの対応する3-フェノキシベンジアルデヒドへの酸化、および

III. 3-フェノキシ安息香酸または4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸への酸化を含むプロセスにおいて、タイプIIピレスロイド化合物は、3-フェノキシ安息香酸または4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸へ転換される。

【0011】

スキーム1は、タイプIIピレスロイド化合物を3-フェノキシ安息香酸または4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸へ転換するプロセスを例示する。

【化1】



式中X=HまたはF

スキーム1

【0012】

使用する加水分解および酸化試薬の種類および量は、サンプル中に含まれるタイプIIピレスロイド化合物の転換を確実にするために選択されるべきである。

使用する加水分解および酸化試薬の種類および量を決定する際に関連する要因は、特定の種類のサンプルに典型的に含まれるタイプIIピレスロイド化合物の相対的比率およびサンプルの特質であり得、たとえば、かんきつ油は、多くの天然酸化防止剤を含むため、それに含まれるタイプIIピレスロイド化合物の酸化を難しくし得る。さらに、かんきつ油の不溶性は、加水分解を難しくする。

【0013】

特定の種類のサンプルに典型的に含まれる、タイプIIピレスロイド化合物の相対的比率に対して、典型的には、大過剰の酸化および加水分解剤を、サンプル、とくにかんきつ油サンプル中のタイプIIピレスロイド化合物の転換を確実なものとするために用いるべきである。食品、水、果物および野菜抽出物、たとえばかんきつ油、飲料、あらゆる種類

の食品、食品添加物、フレーバー剤、フレグランス、作物ホモジナート、ハウスダストおよび土壌サンプルなどの典型的なサンプルは、ppbまたはppm濃度で、これらの化合物を含み、当業者は一般的にサンプル中のタイプIIピレスロイド化合物の転換を確実なものとするために桁違いに過剰量の、たとえば、1000部あたり複数部で試薬を用いることができる。

酸化および加水分解剤の大過剰の使用のさらなる利点は、これにより、サンプルに存在するタイプIIピレスロイド化合物の濃度に左右される疑似一次反応速度の達成を確実なものとし得ることである。

【0014】

例示的態様では、タイプIIピレスロイド化合物の加水分解は、塩基性条件下で行う。

一般的な塩基性加水分解剤の限定されない例は、含水金属水酸化物を含み、その限定されない例は、水酸化ナトリウム(NaOH)、水酸化カリウム(KOH)、水酸化リチウム(LiOH)、含水水酸化アンモニウム、トリエチルアミン、N,N-ジイソプロピルエチルアミン(DIEA)、トリエタノールアミン、アンモニアガスを含む。

例示的態様として、タイプIIピレスロイド化合物の加水分解は、含水金属酸化物を用いて塩基性条件下で行う。

例示的態様では、タイプIIピレスロイド化合物の加水分解は、含水NaOHを用いて塩基性条件下で行う。

【0015】

一般的な酸化剤の限定されない例は、亜塩素酸ナトリウム、過酸化水素、次亜塩素酸ナトリウム、銀イオン、銅イオン、過マンガン酸カリウム、オゾン、酸素、ハロゲンを含み、その限定されない例は、塩素、フッ素、臭素、過ヨウ素酸塩、クロム酸塩試薬を含み、その限定されない例は、三酸化クロム、フェントン触媒および光酸化を含む。

例示的態様では、酸化は、過酸化水素を用いて行う。

上述のように加水分解および酸化は、独立してまたは同時に行われる。

本発明の態様では、加水分解および酸化は、同時に行ってもよい。

【0016】

例示的態様では、酸化および加水分解は、0.4MNaOHを含む30%過酸化水素の溶液800μlを用いた100μlサンプルに対して行う。

タイプIIピレスロイド化合物もまた、エステル交換によって、α-シアノアルコールであるα-ヒドロキシ-3-フェノキシベンゼンアセトニトリルおよび/またはα-ヒドロキシ-4-フルオロ-3-フェノキシベンゼンアセトニトリルに転換される。

例示的態様では、タイプIIピレスロイド化合物は、エステル交換によって、α-シアノアルコールであるα-ヒドロキシ-3-フェノキシベンゼンアセトニトリルおよび/またはα-ヒドロキシ-4-フルオロ-3-フェノキシベンゼンアセトニトリルに転換される。

【0017】

ここで述べるように、加水分解試薬に対して、エステル交換に選択される試薬および用いられる量は、サンプルの特質および特定の種類のサンプルに、典型的に含まれるタイプIIピレスロイド化合物の相対比率に依存する。加水分解試薬に関しては、エステル交換試薬は、サンプル中のタイプIIピレスロイド化合物の転換を確実なものとするために過剰量の、たとえば、1000部あたり複数部で添加すべきである。

例示的態様では、エステル交換は、メタノール存在下のナトリウムメトキシドを用いて行う。

例示的態様では、エステル交換および酸化は、上述のように、独立してまたは同時に行ってもよい。

【0018】

加水分解および酸化もまた酵素的に行ってもよい。

例示的態様では、酸化および加水分解は、1または2以上の酸化還元酵素および1または2以上のカルボキシルエステラーゼ酵素または前述の酵素的システムを用いて酵素的に

10

20

30

40

50

行う。

ここで用いる酵素的システムの用語は、2以上の酵素を含む組成物をいう。

【0019】

酸化還元酵素の限定されない例は、 NAD(P)^+ トランスヒドロゲナーゼ（A B-特異的）、 NAD(P)^+ トランスヒドロゲナーゼ（B-特異的）、シトクロム b5 レダクターゼ、レグヘモグロビンレダクターゼ、 NADPH -シトクロム-c2 レダクターゼ、 NADPH -ヘムタンパク質レダクターゼ、2-ヒドロキシ-1, 4-ベンゾキノンレダクターゼ、トリメチルアミン-N-オキシドレダクターゼ、アリール-アルデヒドデヒドロゲナーゼ、アルコールデヒドロゲナーゼを含む。

カルボキシエステラーゼ酵素の限定されない例は、メチルブチラーゼ、カルボン酸エステラーゼ、ブチリルエステラーゼ、エステラーゼ A、エステラーゼ B、エステラーゼ D、カルボキシルエステラーゼ 1 を含む。

例示的態様では、加水分解は、カルボキシルエステラーゼ 1 を用いて酵素的に行う。

【0020】

例示的態様では、酸化は、アリール-アルデヒドデヒドロゲナーゼを用いて酵素的に行う。

例示的態様では、加水分解および酸化の両方は、カルボキシルエステラーゼ 1 およびアリール-アルデヒドデヒドロゲナーゼを個別に用いて酵素的に行う。

例示的態様では、加水分解および酸化の両方は、カルボキシルエステラーゼ 1 およびアリール-アルデヒドデヒドロゲナーゼを同時に用いて酵素的に行う。

【0021】

本発明に用いる酵素は、固定化または遊離 (mobilised) 形態で用いてもよい。

例示的態様では、酵素は、遊離している。

固定化酵素はしばしば結合されない状態の酵素と比較して有機溶媒に対して増加した耐性をしばしば示すことが一般的に知られている。

例示的態様では、酵素は、固定化されている。

【0022】

酸化、とくに化学的酸化の後、および後続する 3-フェノキシ安息香酸および／または 4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸の存在の決定の前に、反応混合物を中和してもよく、および／または固相抽出 (SPE)、または液体-液体抽出 (LLE) 工程を行ってもよい。

中和は、とくに 3-フェノキシ安息香酸または 4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸の存在の後続する決定を、免疫測定法を用いて行うときに有益である。これは、たとえば、マトリックスからの障害を最小化し、および／または免疫測定法に用いられる抗体への酸化剤のあらゆる変性効果を防止することによって、より高感度の分析をもたらす得るからである。

【0023】

後続する 3-フェノキシ安息香酸または 4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸の存在の決定を、GC または MS を用いて行うときは、SPE または LLE はとくに有益である。なぜなら、これは、分析のためのサンプルの濃縮および精製に作用するからである。

いかに酸化および加水分解が、たとえば酵素的に行われたか、およびたとえば、LC、GC、または免疫測定法から選択された分析方法に依存して、中和または SPE 工程が必要か望ましいか否かについて決定することは、当業者の範囲内である。

例示的態様では、中和工程は、酸化の後であって後続するサンプル中の 3-フェノキシ安息香酸または 4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸の存在の決定の前に行う。

【0024】

中和剤およびその用いる量は、用いる具体的な中和剤、サンプルの特質および用いる量および酸化剤によって決まる。酸化試薬を中和するために選択すべきである。

一般的な中和剤の限定されない例は、アスコルビン酸、白金触媒、亜鉛金属、メタ重亜硫酸ナトリウム、水素ガス、銀金属、パラジウム金属、酸化マンガン、カタラーゼを含む

10

20

30

40

50

。

【0025】

酸化剤および用いられたその量に基づき中和剤の具体的な試薬および量を決定することは、当業者の範囲内である。十分な量の中和剤が添加されたときを示すのに、反応混合物のpHが、用いられてもよい。

例示的態様では、中和は、白金触媒を用いて行う。

例示的態様では、中和は、800 μ lの30%過酸化水素溶液を用いた100 μ lのサンプル中のタイプIIピレスロイド化合物の酸化の後に、0.5%のアルミナ上の白金を用いて行う。

例示的態様では、SPE工程は、酸化の後であって後続する3-フェノキシ安息香酸および/または4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸の存在の決定の前に行う。

10

【0026】

本発明の特別な態様では、サンプルは、かんきつ油である。

本発明の例示的態様では、サンプルは、かんきつ油であり、水酸化ナトリウムを用いて加水分解が、過酸化水素を用いて酸化が、固体支持体上の白金触媒を用いて中和が行われる。

本発明の他の例示的態様では、サンプルは、かんきつ油が混合された水であり、水酸化ナトリウムを用いて加水分解、過酸化水素を用いて酸化、固体支持体上の白金触媒を用いて中和が行われる。

例示的態様では、100 μ lのかんきつ油サンプルが、800 μ lの30%過酸化水素溶液を用いて加水分解および酸化され、0.5%のアルミナペレット上の白金を用いて中和された。

20

【0027】

かんきつ油サンプル中に含まれる、タイプIIピレスロイド化合物の3-フェノキシ安息香酸または4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸への転換のプロセスを、図1で説明する。

サンプル中のタイプIIピレスロイド化合物の転換前後における3-フェノキシ安息香酸および/または4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸の存在を、当業者に知られている手段、たとえば、免疫測定法、GC、LC、MS、高圧液体クロマトグラフィー（HPLC）およびそれらの組み合わせによって決定することができる。

30

【0028】

本発明の例示的態様では、タイプIIピレスロイド化合物の転換前後における3-フェノキシ安息香酸および/または4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸の存在は、免疫測定法によって決定される。

免疫測定法によって分析する前に、サンプルのpHを6~9の範囲内のpHに調整してもよい。

【0029】

3-フェノキシ安息香酸および/または4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸の存在および/または濃度の決定を可能とするいずれの免疫測定法を用いてもよい。可能な免疫測定法の限定されない例は、競合免疫測定法、非競合免疫測定法、ラジオイムノアッセイ、蛍光免疫測定法、磁気免疫測定法、PCR免疫測定法、電気化学発光免疫測定法および酵素免疫測定法（以下ELISA）を含む。

40

本発明の例示的態様では、タイプIIピレスロイド化合物からの転換前後における3-フェノキシ安息香酸および/または4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸の存在は、ELISAによって決定される。

【0030】

ELISAにおいて、3-フェノキシ安息香酸および/または4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸の存在の決定を可能とするいずれの酵素、抗原および抗体を用いてもよい。

。

可能な酵素の限定されない例は、ペルオキシダーゼ、ホスファターゼおよびB-ガラク

50

トシダーゼを含む。

例示的態様では、ペルオキシダーゼが、サンプル中の 3-フェノキシ安息香酸および／または 4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸の存在を決定するために E L I S A において用いられる。

限定されない可能な抗原の例は、免疫原として、3-((2-オキシエトキシ)エトキシ)フェノキシ安息香酸-チログロブリン複合体、および被覆抗体として 3-P B A ウシ血清アルブミンがこれの競合フォーマットで、含まれる。Shan, G.; Huang, H.; Stoutamire, D.W.; Gee, S.J.; Leng, G.; Hammock, B.D. Chem. Res. Toxicol. 2004, 17, 218-225が、ここで参照することにより組み込まれ、この抗体についてより多くの情報を含む。

10

【0031】

3-P B A と反応するあらゆる抗体を、サンプル中の 3-フェノキシ安息香酸および／または 4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸の存在を決定するための E L I S A において用いてもよい。

例示的態様では、E L I S A において、抗-3 P B A # 2 9 4 ウサギ抗体を用いる。Shan, G.; Huang, H.; Stoutamire, D.W.; Gee, S.J.; Leng, G.; Hammock, B.D. Chem. Res. Toxicol. 2004, 17, 218-225が、ここで参照することにより組み込まれ、この抗体についてより多くの情報を含む。

【0032】

ここで開示される方法は、1 p p m 以上、0.5 p p m 以上、1 p p b 以上、0.5 p p b 以上の濃度でサンプル中に存在するタイプ I I ピレスロイド化合物の検出するのに用いてもよい。ここで問題となっているサンプルの特質に依存する検出下限、すなわち、検出下限は、かんきつ油の複合組成およびそこに含まれるタイプ I I ピレスロイド化合物の加水分解および酸化が困難であるために、水サンプルと比較して、かんきつ油サンプルの方がより高い。

20

具体例では、サンプルは水であり、検出下限が、0.5 p p b である。

具体例では、サンプルがかんきつ油であり、検出下限が、0.5 p p m である。

本発明を以下の限定されない例によってさらに詳細に記載する。

【0033】

例 1-酸化剤として過酸化水素、中和剤として白金触媒を用いた、オレンジ油中のタイプ I I ピレスロイド化合物の転換

30

オレンジ油に最終濃度 10 μ M の示した農薬を混ぜ、すべてのサンプルは、3 回行った。100 μ L のオレンジ油サンプルをガラスバイアルにピペットで入れ、圧縮空気の一定の流れのもと、1 時間揮発させた。そしてサンプルに、200 μ L のジオキサン、0.4 N NaOH を含む 800 μ L の 30 % w / v 過酸化水素を添加した。サンプルを、その後、1 時間、50 $^{\circ}$ C で攪拌しながらインキュベートした。その後、サンプルをアルミナペレット上の 0.5 % 白金を添加することによって中和し、中和を完了するために、25 $^{\circ}$ C で 2 時間攪拌せずにインキュベートした。サンプルをその後、E L I S A による分析の前に 10 % MeOH、90 % 0.1 M リン酸緩衝液に 200 $\times$ に希釈した。結果は、図 2 に見ることができる。

40

【0034】

例 2-酸化剤として亜塩素酸ナトリウム、中和剤としてアスコルビン酸を用いた、オレンジ油からのタイプ I I ピレスロイド化合物の転換

オレンジ油に農薬について示した最終濃度を混ぜ、すべてのサンプルは、3 回行った。100 μ L のオレンジ油サンプルをガラスバイアルにピペットで入れ、圧縮空気の一定の流れのもと、1 時間揮発させた。そしてサンプルに、200 μ L のジオキサン、0.4 N NaOH を含む 800 μ L の 10 % w / v の亜塩素酸ナトリウムを添加した。サンプルを、その後、1 時間、75 $^{\circ}$ C で攪拌しながらインキュベートした。その後、サンプルを冷却し、2 つの別の方法で分析した。E L I S A によって分析したサンプルに、1.0 m l の 1.0 M アスコルビン酸を添加した。NaOH を添加することにより、p H を約 7 まで

50

に修正し、E L I S Aによる分析の前に10%MeOH、90%0.1Mリン酸緩衝液で400×に希釈した。GCおよびLC/MSによって分析したサンプルは、そのpHを5までにHClを用いて調整し、1.0mLの0.2M酢酸ナトリウム緩衝液pH4.5で希釈した。これらのサンプルをその後、Strata-screen A混合モードSPEカラムを用いて、清浄し、LC/MSおよびGC/MSによって分析した。Ahn KC, Lohstroh P, Gee SJ, Gee NA, Lasley B, Hammock BD. Anal Chem. 2007 79(23):8883-8890が、ここで参照することにより組み込まれ、このSPE法についてより多くの情報を含む。

【0035】

結果は表1に見ることができる。

【表1】

ELISA	SD	GC/MS	SD	LC/MS	SD	混合レベル (spike level)	ピレスロイド
5.8	0.5	12.9	2.1	23.2	3.4	10.6	デルタメトリン
5.8	0.9	N/A		N/A		11.3	ベータシフルトリン
5.6	0.7	6.9	1.0	15.5	2.8	9.5	(4.6)デルタメトリン, (4.9)アクリナトリン
6.6	0.9	6.7	1.2	19.5	3.8	11.3	(3.7)デルタメトリン, (3.8)アクリナトリン, および(3.8)ラムダーシハロトリン
0.9	0.1	<LOQ		5.5	0.4	2.1	デルタメトリン
1.0	0.2	N/A		N/A		2.3	ベータシフルトリン
1.5	0.3	3.4	0.1	6.7	0.5	1.9	(0.92)デルタメトリン, (0.98)アクリナトリン
1.5	0.2	4.3	0.4	8.3	0.5	2.3	(0.74)デルタメトリン, (0.76)アクリナトリン, および(0.76)ラムダーシハロトリン

表 1

【0036】

例3—酸化剤として亜塩素酸ナトリウム、中和剤としてアスコルビン酸を用いた、オレンジ油からのピレスロイド化合物の転換

グレープフルーツおよびレモン油に最終濃度2.5ppmのデルタメトリンを混ぜ、すべてのサンプルは、3回行った。100μLのかんきつ油サンプルをガラスバイアルにピペットで入れ、圧縮空気の一定の流れのもと、1時間揮発させた。そしてサンプルに、200μLのジオキサソ、0.4N NaOHを含む800μLの10%w/v亜塩素酸ナトリウムを添加した。サンプルを、その後、1時間、75℃で攪拌しながらインキュベートした。その後、サンプルを冷却し、2つの別の方法で分析した。サンプルに、1.0mLの1.0Mアスコルビン酸を添加した。NaOHを添加することにより、pHを約7までに修正し、E L I S Aによる分析の前に10%MeOH、90%0.1Mリン酸緩衝液で400×に希釈した。結果は、図3に見ることができる。

10

20

30

【図 1】

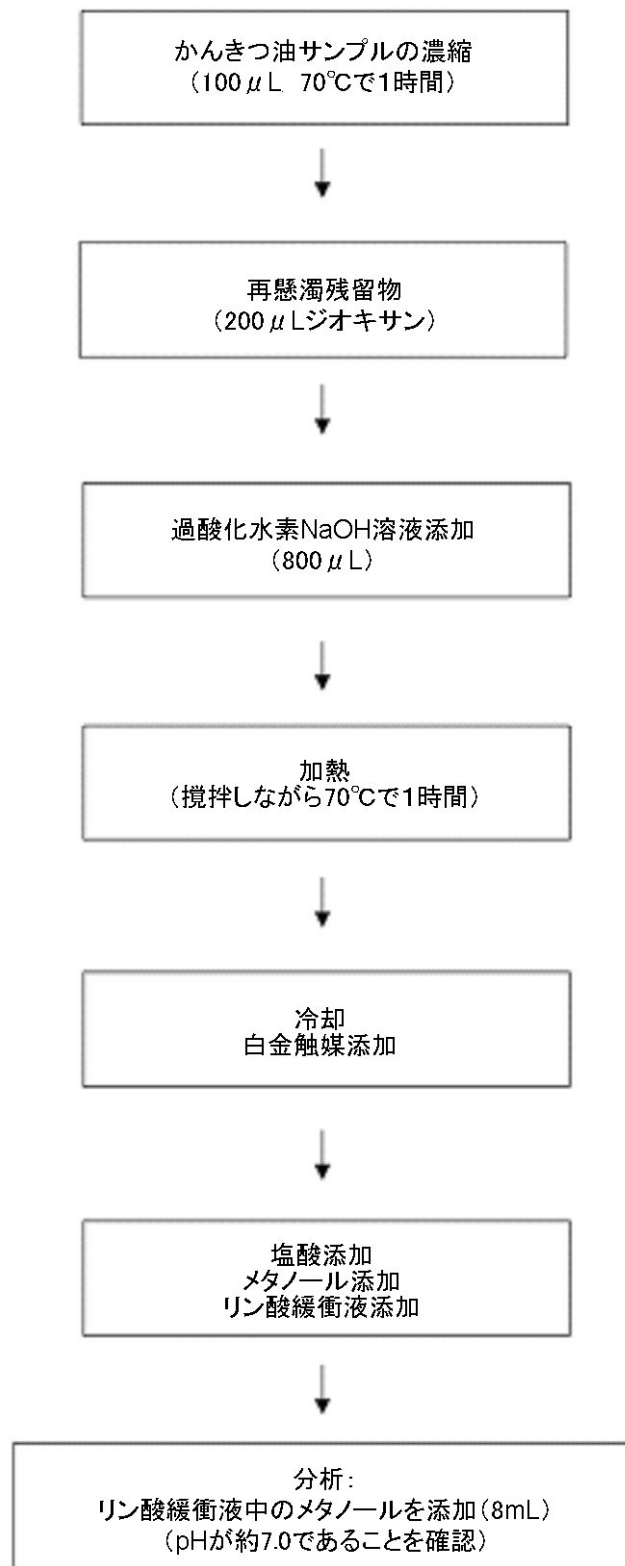


図 1

【図 2】

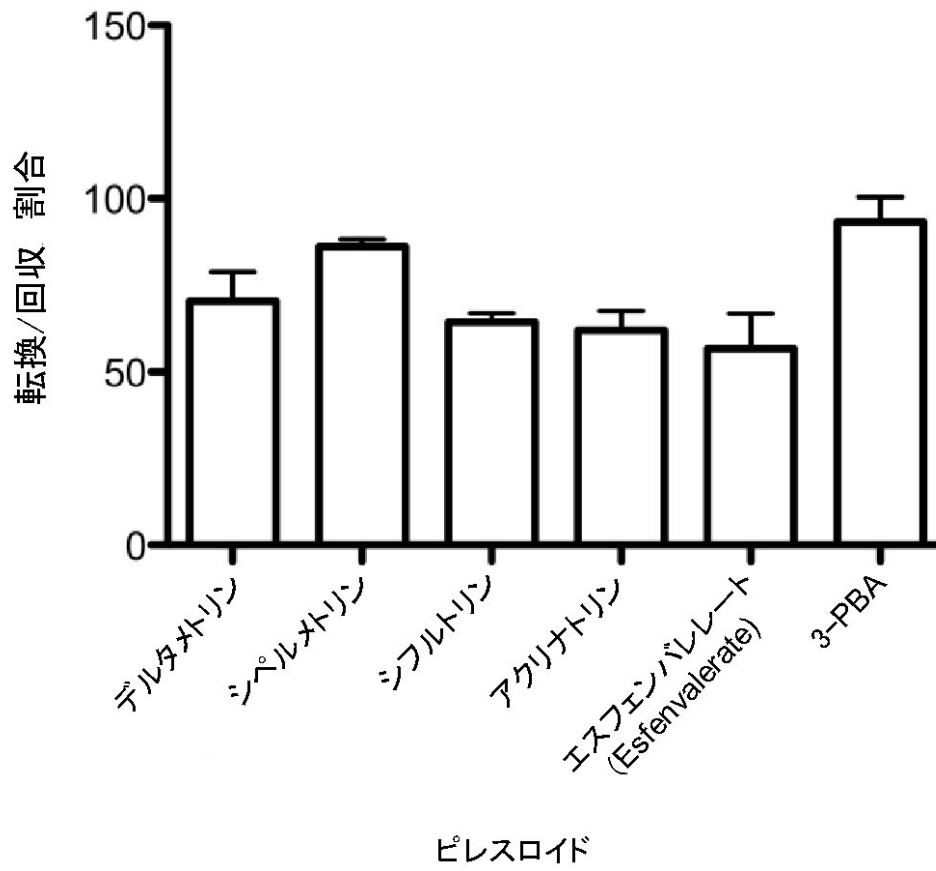


図 2

【図 3】

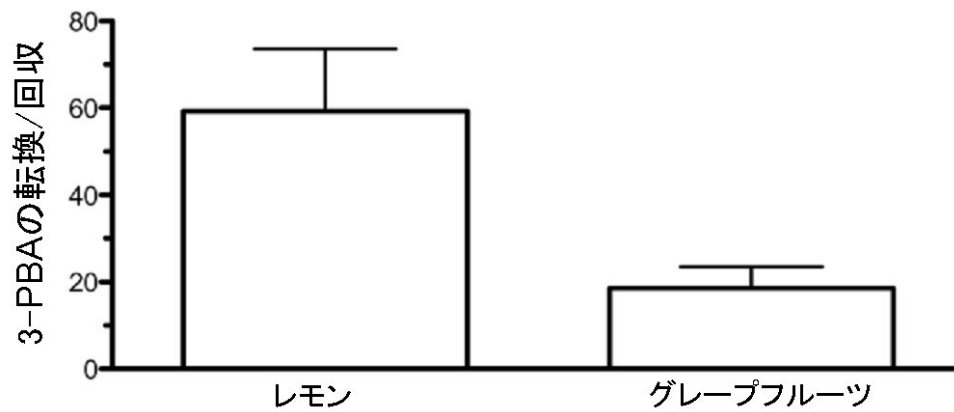


図 3

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2011/070906

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A01N25/12 A01N53/00 C07C43/315 C07K16/44 G01N33/53
 ADD.

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)

A01N C07C C07K G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, FSTA, INSPEC, MEDLINE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 03/066874 A1 (COMMW SCIENT IND RES ORG [AU]; RUSSELL ROBYN JOYCE [AU]; HEIDARI RAMA) 14 August 2003 (2003-08-14)	1,3,7,9, 11,13
Y	page 2, line 27 - page 3, line 2 page 6, lines 3-15 page 28, line 23 - page 30, line 19 ----- -/-	2,4-6,8, 10,12,14

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ 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 document 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 another 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

"T" 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

7 March 2012

Date of mailing of the international search report

02/04/2012

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Michalitsch, Richard

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2011/070906

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	LENG G ET AL: "Human dose-excretion studies with the pyrethroid insecticide cyfluthrin: urinary metabolite profile following inhalation", XENOBIOTICA, TAYLOR AND FRANCIS, LONDON, GB, vol. 27, no. 12, 1 December 1997 (1997-12-01), pages 1273-1283, XP009157106, ISSN: 0049-8254	1,11
Y	page 1273 - page 1274 Sections: Analytical methods Section: Insecticide formulation Section: Determination of cyfluthrin metabolites in urine samples. figure 2	2-10, 12-14
X	----- WO 90/10450 A1 (UNIV CALIFORNIA [US]) 20 September 1990 (1990-09-20) column 8, line 21 - column 9, line 56 -----	1
X	EP 0 327 163 A2 (SHELL INT RESEARCH [NL] BIOCODE INC [US]) 9 August 1989 (1989-08-09) page 2, line 51 - page 3, line 8 page 5, lines 13-29 example 2	1
A	-----	2-14
Y	WO 2008/010837 A2 (UNIV CALIFORNIA [US]; GONZALEZ-SAPIENZA GUALBERTO [UY]; HAMMOCK BRUCE) 24 January 2008 (2008-01-24) paragraphs [0004], [0014] paragraph [0025] paragraph [0031] example 4 -----	2-10, 12-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2011/070906

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)	Publication date			
WO 03066874	A1	14-08-2003	AU	2002227797 A1	02-09-2003			
			CA	2475095 A1	14-08-2003			
			CN	1617932 A	18-05-2005			
			EP	1478761 A1	24-11-2004			
			GB	2403221 A	29-12-2004			
			HK	1067152 A1	10-02-2006			
			JP	4546091 B2	15-09-2010			
			JP	2005516624 A	09-06-2005			
			NZ	534568 A	29-09-2006			
			US	2005176117 A1	11-08-2005			
			US	2009269833 A1	29-10-2009			
			US	2011065167 A1	17-03-2011			
			WO	03066874 A1	14-08-2003			

WO 9010450	A1	20-09-1990	CA	2047691 A1	07-09-1990			
			EP	0462147 A1	27-12-1991			
			JP	7064880 B	12-07-1995			
			JP	H04504502 A	13-08-1992			
			US	5108900 A	28-04-1992			
			WO	9010450 A1	20-09-1990			

EP 0327163	A2	09-08-1989	AR	241825 A1	30-12-1992			
			AT	121192 T	15-04-1995			
			AU	2894689 A	03-08-1989			
			BR	8900409 A	26-09-1989			
			CA	1340594 C	15-06-1999			
			CN	1037969 A	13-12-1989			
			CN	1308236 A	15-08-2001			
			DE	68922123 D1	18-05-1995			
			DE	68922123 T2	30-11-1995			
			DK	43089 A	03-08-1989			
			EP	0327163 A2	09-08-1989			
			ES	2073426 T3	16-08-1995			
			FI	890460 A	03-08-1989			
			HK	207896 A	29-11-1996			
			IE	68407 B1	12-06-1996			
			IN	174248 A1	22-10-1994			
			JP	1227059 A	11-09-1989			
			JP	2559069 B2	27-11-1996			
			MA	21486 A1	01-10-1989			
			NO	890403 A	03-08-1989			
			NZ	227804 A	23-12-1991			
			OA	9230 A	30-06-1992			
			PT	89572 A	04-10-1989			
			TR	25397 A	28-01-1993			
			ZA	8900751 A	27-09-1989			
			ZM	789 A1	30-05-1989			
			ZW	1289 A1	30-08-1989			

			WO 2008010837	A2	24-01-2008	US	2008305559 A1	11-12-2008
						WO	2008010837 A2	24-01-2008

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード (参考)
G 0 1 N 33/02 (2006.01)		G 0 1 N 33/02	
G 0 1 N 33/03 (2006.01)		G 0 1 N 33/03	
G 0 1 N 30/88 (2006.01)		G 0 1 N 30/88	C
G 0 1 N 33/53 (2006.01)		G 0 1 N 33/53	S
G 0 1 N 33/543 (2006.01)		G 0 1 N 33/543	5 4 5 A
G 0 1 N 30/06 (2006.01)		G 0 1 N 30/06	E

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN

(72)発明者 ジー, シャーリー ジャクリーン
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 5 6 1 8、デイヴィス、トリィ ストリート 1 3 0 4

(72)発明者 マッコイ, マーク ロデリック
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 5 6 1 8、ディヴィス、コーウェル ブルヴァード 4 9
2 2

(72)発明者 ヤン, ツェン
アメリカ合衆国 フロリダ州 3 4 7 4 7、キシミー、シルバー パルム ドライブ 2 3 7 9

Fターム(参考) 4B063 QA01 QQ16 QQ18 QQ19 QQ91 QR04 QR12 QS17 QS33 QS40

專利名称(译)	用于确定II型拟除虫菊酯存在的体外方法		
公开(公告)号	JP2014502352A	公开(公告)日	2014-01-30
申请号	JP2013540354	申请日	2011-11-24
[标]申请(专利权)人(译)	吉万奥丹股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	奇华顿的SA		
[标]发明人	アンキチャン ジーシャーリージャクリーン マッコイマークロデリック ヤンツェン		
发明人	アン,キ チャン ジー,シャーリー ジャクリーン マッコイ,マーク ロデリック ヤン,ツェン		
IPC分类号	G01N33/15 C12Q1/26 C12Q1/44 G01N33/18 G01N33/14 G01N33/02 G01N33/03 G01N30/88 G01N33/53 G01N33/543 G01N30/06		
CPC分类号	G01N33/54306 A01N53/00 G01N33/5308 Y10T436/24		
FI分类号	G01N33/15.C C12Q1/26 C12Q1/44 G01N33/18.B G01N33/14 G01N33/02 G01N33/03 G01N30/88.C G01N33/53.S G01N33/543.545.A G01N30/06.E		
F-TERM分类号	4B063/QA01 4B063/QQ16 4B063/QQ18 4B063/QQ19 4B063/QQ91 4B063/QR04 4B063/QR12 4B063/QS17 4B063/QS33 4B063/QS40		
优先权	61/416902 2010-11-24 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

一种测定样品中II型拟除虫菊酯化合物存在的体外方法，包括水解样品以将II型拟除虫菊酯化合物转化为3-苯氧基苯甲酸或4-氟-3-苯氧基苯甲酸和氧化样品，然后通过GC，LC，HPLC，MS，免疫测定或其组合分析样品中这些酸的存在。

		特許庁 (P2014-502352A) (2014-502352A)	
		(43) 公表日 平成26年1月30日 (2014.01.30)	
(51) Int. Cl.	F 1	テーマコード (参照) 4B063	
G 0 1 N 33/15 (2006.01)	G 0 1 N 33/15		
C 1 2 Q 1/26 (2006.01)	C 1 2 Q 1/26		
C 1 2 Q 1/44 (2006.01)	C 1 2 Q 1/44		
G 0 1 N 33/18 (2006.01)	G 0 1 N 33/18		
G 0 1 N 33/14 (2006.01)	G 0 1 N 33/14		
		審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 16 頁) 最終3	
(21) 出願番号	特願2013-540354 (P2013-540354)	(71) 出願人	501105842
(86) (22) 出願日	平成23年11月24日 (2011.11.24)		ジボタン エス エー
(86) 翻訳文提出日	平成25年7月23日 (2013.7.23)		スイス国 1 2 1 4 ヴェルニエ、
(86) 国際出願番号	PCT/EP2011/070906		マン ド ラ バルフェウムリー 5
(87) 国際公開番号	W02012/069571	(74) 代理人	100102842
(87) 国際公開日	平成24年5月31日 (2012.5.31)		弁理士 葛和 清司
(31) 優先権主張番号	61/416,902	(74) 代理人	100135943
(32) 優先日	平成22年11月24日 (2010.11.24)		弁理士 三橋 規樹
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(72) 発明者	アン, キ チャン
			アメリカ合衆国 カリフォルニア州
			6 1 8、ディヴィス、ドノヴァン
			7 2 0
		最終頁に	