

機関番号：13904

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20550137

研究課題名（和文）

触媒的炭素—炭素結合生成反応の開発とその残留農薬分析への応用

研究課題名（英文） Development of catalytic carbon-carbon-bond formation reactions and their application to analysis of pesticide residues

研究代表者

岩佐 精二（IWASA SEIJI）

豊橋技術科学大学・大学院工学研究科・准教授

研究者番号：30303712

研究成果の概要（和文）：本研究は、炭素—炭素形成触媒の開発とその応用として免疫的化学測定法（イムノアッセイ）を利用した簡便、廉価、迅速、高精度、自在な測定環境などの特徴を有する残留農薬分析法の確立を目的として研究を行った。その結果、新規触媒を開発し、これを応用して標的農薬特異的なモノクロナール抗体の作成に成功した。この抗体を利用してELISA法による分析精度がppm～ppbレベルの低分子残留農薬分析法を確立することができ市販に至った。

研究成果の概要（英文）：We developed a novel catalyst for carbon-carbon bond formation and successfully applied it for analysis of insecticide residues in agricultural products by a prepared mouse monoclonal antibody using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The working range was ppm-ppb level. The assay was sufficiently sensitive for analysis of the maximum residue limits in agricultural products in Japan. Our results indicate that the system we developed was useful for analysis of insecticide residues in agricultural products because rapid operation, highly accurate, flexible mobility, cheap, environmentally friendly system so on. The kits are now commercially available.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,900,000	1,170,000	5,070,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・環境関連化学

キーワード：ハプテン、免疫化学測定法、抗原抗体反応、残留農薬触媒反応、ELISA、イムノアッセイ、エマメクチン、アズキシストロビン

## 1. 研究開始当初の背景

農薬は毒性の強い生理活性を示す有機化合物がほとんどであること、ポジティブリスト制が導入されたことによる完全報告義

務などから残留農薬の迅速な検査は必須である。現状は、複合的分析機器類などの高価な分析装置に頼ると同時に分析場所も限られ、総じて長時間の分析期間が必要であ

る。40%以上が食品輸入に依存する日本の現状において、したがって残留農薬の迅速な定性・定量分析法の開発が急務である。

## 2. 研究の目的

有機合成化学を駆使して残留農薬の免疫的化学測定法の確立を行う。免疫的化学測定は通常用いられている機器分析に比べて簡便、廉価、迅速、高精度な特徴を有し、環境分析・監視やその結果から誘導される健康の維持に大きく貢献すると考えられる。

## 3. 研究の方法

農薬のハプテン群を触媒的手法により合成し、残留農薬分子センサーとしての標的農薬特異的な抗体をマウス免疫により作成し、免疫的化学測定法に応用する。

(1) ハプテン合成のための触媒開発 (2) 抗体作成

(3) ELISA 法へのセットアップ

(4) キット化、市販

## 4. 研究成果

生物機能を利用したイムノアッセイは、ELISA 法による迅速で簡便・廉価な点に於いて、標的物質の定性・定量などに威力を発揮するものと考えられる。しかしイムノアッセイには標的化合物に対して特異的な抗体を用いるが、農薬を含む環境負荷物質の多くは低分子化合物であるため、それ自体を直接免疫しても抗体は得られない。そこで触媒的手法(触媒的炭素-炭素結合形成反応)で側鎖を導入した誘導體(ハプテン)を合成し、キャリアー蛋白質と結合させて免疫源とし、蛋白質の一部として認識させることにより、標的化合物を特異的に認識する抗体が得られる。農薬はその多くが活性水素やハロゲンを含んでいることに特徴がある。これらの官能基部位を含む農薬の特徴に着目し、独自に開発した触媒的リンカー導入方法を応用してハプテン群の合成が可能である。本研究で具体的には、(1) 炭素炭-素結合形成反応の触媒開発 (2) 殺虫剤ハプテン合成、(3) 標的農薬モノクロナール抗体作成、標的農薬標識抗体作製、標的農薬キット化、市販化等の成果を得た。標的農薬には機器分析が特に煩雑な殺虫剤エマメクチンと殺菌剤アゾキシストロピンを選定した。その結果、最終的に堀場製作所(株)による市販化、等が達成された。成果は、国内外学会発表、論文発表、特許申請等を行った。本成果は、現在、輸入品目の定常的検査、国内生産拠点での戦略的監視、農薬製造メーカーの自主検査用、研究用などに既に利用

されている。今後、多標的センシングに展開して行きたい。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計7件)

① Ahmad Fakhruddin, Kesiny Phomkeona, Abdel-Moneim Abu-Elfotoh, Kazutaka Shibatomi, Seiji Iwasa, Ru(II)- and Ir(I) Catalyzed Hydrogen Peroxide Oxidation of Hydroxamic Acids and their Subsequent Hetero Diels-Alder Cycloadditions with Chiral N-Dienyl Lactams, *Letters in Organic Chemistry*, **2010**, *7*, 475-478. (査読有)

② Abdel-Moneim Abu-Elfotoh, Kesiny Phomkeona, Kazutaka Shibatomi, Seiji Iwasa, Asymmetric Inter- and Intramolecular Cyclopropanation Reactions Catalyzed by a Reusable Macroporous-Polymer-Supported Chiral Ruthenium(II)/Phenylloxazoline Complex, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 8439-8443. (査読有)

③ Kondo, M.; Yamashita, H.; Uchigashima, M.; Kono, T.; Takemoto, T.; Fujita, M.; Saka, M.; Iwasa, S.; Ito, S.; Miyake, S. Development of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Residue Analysis of the Insecticide Emamecton Benzoate in Agricultural Products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*, 359-364, **2009**. (査読有)

④ Phomkeona, K.; Nguyen M. N.; Shibatomi, K.; Iwasa, S. Design and Synthesis of Novel Molecular Ru(II) Catalyst and its Applications to Highly Active Carbene Insertion Reactions of Diazo Ester, *Journal of Science and Engineering*, **2009**, *45*, 5A, 37-42. (査読有)

⑤ Abu-Elfotoh, A.-M.; Phomkeona, K.; Lorbriayao, B.; Jingbaohom, N.; Shibatomi, K.; Iwasa, S.; Synthesis of a Novel Microporous Polymer-supported Ru(II) Catalyst and its Applications to Highly Efficient N-H Insertion Reactions, *Journal of Science and Engineering*, **2009**, *45*, 5A, 118-123. (査読有)

⑥ Abdel-Moneim Mohamed Abu-Elfotoh, Kesiny Phomkeona, Bounphak Lorbriayao, Ni-on Jingbaohom, Kazutaka Shibatomi, Seiji Iwasa, Design and Synthesis a Novel Microporous Polymer-Supported Chiral Ru(II) Catalyst and its Applications to Highly Stereoselective Catalytic Asymmetric Cyclopropanations, *Journal of*

*Science and Technology*, **2009**, *47*, 500-506. (査読有)

⑦ Phomkeona, K.; Iwasa, S.; Ishima, Y.; Takemoto, T.; Shibatomi, K.; Nishiyama, H. Chiral

Bis(2-oxazolynyl)xanthene(xabox)/Transition Metal Complexes Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloaddition Reactions, *Tetrahedron*, **2008**, *64*, 1813-1822. (査読有)

[学会発表] (計 8 件)

① Abdel-Moneim Abu-Elfotoh, Kesiny Phomkeona, Kazutaka Shibatomi, Seiji Iwasa, The 11<sup>th</sup> International Chemistry Conference and Exhibition in Africa (11 ICCA), *The Role of Chemistry in Development of Africa*, Asymmetric Inter- and Intramolecular Cyclopropanation Reactions Catalyzed by Reusable Macroporous Polymer-Supported Chiral Ru(II)-pheox Complex, (Poster Presentation ), 20-23<sup>rd</sup> November **2010**, Luxor, EGYPT. (査読有)

② Kesiny Phomkeona, Abdel-Moneim Abu-Elfotoh, Kazutaka Shibatomi, Seiji Iwasa, The 11<sup>th</sup> International Chemistry Conference and Exhibition in Africa (11 ICCA), *The Role of Chemistry in Development of Africa*, Catalytic Asymmetric Carbene Transfer Reactions to Functionalized Alkenes: Highly Efficient Synthesis of Optically Active Cyclopropyl Amine and Ether Analogues, (Oral Presentation), 20-23<sup>rd</sup> November **2010**, Luxor, EGYPT. (査読有) (依頼講演)

③ Abdel-Moneim Mohamed Abu-Elfotoh, Nguyen Minh Ngoc, Kesiny Phomkeona, Kazutaka Shibatomi, Seiji Iwasa, The 2<sup>nd</sup> Regional Conference on *Global Environmental Issues for Sustainable Development in the ASEAN Region*, Hydrogen Peroxide Oxidation of Phenol Derivatives Catalyzed by Microporous Polymer-Supported Ru(II)-*dm*-pheox, (Oral Presentation), 8-9<sup>th</sup> March **2010**, Ho Chi Minh City, VIETNAM. (査読有)

④ Abdel-Moneim Abu-Elfotoh, Kesiny Phomkeona, Kazutaka Shibatomi, Seiji Iwasa, Global COE in chemistry (Material Science Frontier Seminar), *The most advanced science based on manufacturing technology: Molecular design, Creation, and breakthrough*, Microporous Polymer-Supported Chiral Ru(II)-pheox Complex as an Efficient Catalyst for Enantioselective Cyclopropanation Reactions, (Poster Presentation No. P-30) November

30-December 1<sup>st</sup>, **2009**, Nagoya University, JAPAN. (査読有)

⑤ A. M. Abu-Elfotoh, K. Phomkeona, K. Shibatomi, S. Iwasa, The Eleventh International Kyoto Conference on *New Aspects of Organic Chemistry* (IKCOC-11), Design and Synthesis of a Novel Microporous Polymer-Supported Chiral Ru(II)-pheox Catalyst With High Reactivity, Enantioselectivity, Reusability and Storage Ability in Cyclopropanation Reactions, (Poster Presentation No. PC-053), 9-13<sup>th</sup> November **2009**, Rihga Royal Hotel Kyoto, JAPAN. (査読有)

⑥ Abdel-Moneim Mohamed Abu-Elfotoh, Kesiny Phomkeona, Bounphak Lorbriyao, Ni-on Jingbaohom, Kazutaka Shibatomi, Seiji Iwasa, The 2<sup>nd</sup> Regional Conference on Chemical Engineering: *Chemical Engineering for Sustainable Development and Collaboration in the ASEAN Region*, Design and Synthesis a Novel Microporous Polymer-Supported Chiral Ru(II) Catalyst and its Applications to Highly Stereoselective Catalytic Asymmetric Cyclopropanations, (Oral Presentation O-1B) 23-24<sup>th</sup> October **2009**, Rex Hotel, Ho Chi Minh City, VIETNAM. (査読有)

⑦ Abdel-Moneim Mohamed Abu-Elfotoh, Safumi Murakami, Kesiny Phomkeona, Bounphak Lorbriyao, Ni-on Jingbaohom, Kazutaka Shibatomi, Seiji Iwasa, The 2<sup>nd</sup> Regional Conference on Chemical Engineering: *Chemical Engineering for Sustainable Development and Collaboration in the ASEAN Region*, Synthesis a Novel Microporous Polymer-Supported Ru(II) Catalyst and its Applications to Highly Efficient N-H Insertion Reactions, (Poster Presentation P-17) 23-24<sup>th</sup> October **2009**, Rex Hotel, Ho Chi Minh City, VIETNAM. (査読有)

⑧ A. Abu-Elfotoh; K. Phomkeona; K. Shibatomi; S. Iwasa, The 1<sup>st</sup> AUN/SEED-Net, *Regional Conference on Materials 2009*, Microporous Polymer-supported Chiral Ru(II)pheox Catalysts and their Successful Application to Catalytic Asymmetric Cyclopropanation Reactions with High Reactivity, Enantioselectivity and Re-usability, (Oral Presentation), 16-17<sup>th</sup> February **2009**, Equatorial Hotel Penang, MALAYSIA. (査読有)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称：アゾキシストロビン誘導体、アゾキシストロビンに対する抗体、またはそのフラグメントならびにそれらの抗体またはフラグメントを用いた測定キットおよび測定方法  
発明者：岩佐、三宅その他  
権利者：堀場製作所  
種類：特許  
番号：特願 2010-149812  
出願年月日：2010 年  
国内外の別：国内

○取得状況（計 1 件）

名称：アゾキシストロビン誘導体、アゾキシストロビンに対する抗体、またはそのフラグメントならびにそれらの抗体またはフラグメントを用いた測定キットおよび測定方法

発明者：岩佐、三宅その他  
権利者：堀場製作所  
種類：特許  
番号：特願 2010-149812  
取得年月日：2010 年  
国内外の別：国内

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩佐 精二  
豊橋技術科学大学・大学院工学研究科・  
准教授  
研究者番号：3030712

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：