

文章编号: 1008-1542(2008)04-0279-04

## 三唑类手性农药高效液相色谱分离的研究

武彤<sup>1</sup>, 李朝阳<sup>2</sup>, 李巧玲<sup>3</sup>, 张炳焯<sup>1,4</sup>, 李景印<sup>2</sup>, 王未肖<sup>2</sup>

(1. 河北科技大学化学与制药工程学院, 河北石家庄 050018; 2. 河北科技大学理学院, 河北石家庄 050018; 3. 河北科技大学生物科学与工程学院, 河北石家庄 050018; 4. 河北工业大学化工学院, 天津 300130)

**摘要:** 采用正相高效液相色谱研究了三唑酮、烯唑醇、腈菌唑、粉唑醇、多效唑和双苯三唑醇 6 种三唑类手性农药在 Chiralcel OD-H 和 Chiralcel OJ-H 手性柱上的对映体分离, 通过优化分离条件, 实现了几种手性农药对映体的拆分, 并探讨了流动相极性对分离的影响。在此基础上对比了 2 种纤维素手性固定相的手性拆分效果, 探讨了相应的手性识别机理。

**关键词:** 高效液相色谱; 对映体分离; 手性识别机理; OD-H 和 OJ-H 手性柱

中图分类号: O658 文献标识码: A

## Study on chiral separation of triazole pesticides by high-performance liquid chromatography

WU Tong<sup>1</sup>, LI Zhao-yang<sup>2</sup>, LI Qiao-ling<sup>3</sup>, ZHANG Bing-zhu<sup>1,4</sup>, LI Jing-yin<sup>2</sup>, WANG Wei-xiao<sup>2</sup>

(1. College of Chemical and Pharmaceutical Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang Hebei 050018, China; 2. Colleges of Sciences, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang Hebei 050018, China; 3. College of Bioscience and Bioengineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang Hebei 050018, China; 4. School of Chemical Engineering and Technology, Hebei University of Technology, Tianjin 300130, China)

**Abstract:** The enantioseparation of six triazole chiral pesticides including triadimefon, diniconazole, myclobutanil, flutriafol, paclobutrazol and bitertanol were studied on Chiralcel OD-H and Chiralcel OJ-H chiral columns in the normal-phase HPLC mode. The resolution conditions were optimized on the two chiral columns. The effect of polarity of mobile phase on separation was discussed. Resolution results of different cellulose chiral stationary phases and chiral recognition mechanism were further evaluated.

**Key words:** HPLC; enantioseparation; chiral recognition mechanism; OD-H and OJ-H chiral columns

随着生命科学和有机立体化学的发展, 提供药效高、毒副作用小的光学纯农药已成为现代农药学研究的重要内容, 手性农药对映体的分离受到人们越来越多的重视。近 20 年来, 手性固定相(CSP) 高效液相色谱分离手性农药的研究发展十分迅速<sup>[1]</sup>, 其中纤维素类手性固定相是应用较为广泛、手性拆分能力较强的一类<sup>[2]</sup>, 在所有的纤维素衍生物手性柱中, 纤维素-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)(Chiralcel OD-H)和纤维素-三(4-甲基苯基氨基甲酸酯)(Chiralcel OJ-H)手性固定相对众多手性化合物都表现出了较高的手性识别能力<sup>[3]</sup>。笔者采用正相高效液相色谱, 在 Chiralcel OD-H 及 Chiralcel OJ-H 柱上对腈菌唑、多效唑、三唑酮、烯唑醇、

收稿日期: 2008-07-02; 修回日期: 2008-09-12; 责任编辑: 张士莹

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20707005)

作者简介: 武彤(1982), 女, 河北晋州人, 硕士研究生, 主要从事分析化学和分离科学方面的研究。

联系人: 李朝阳副教授

粉唑醇和双苯三唑醇 6 种农药的手性分离进行了研究, 其中腈菌唑、三唑酮、烯唑醇、粉唑醇和双苯三唑醇均为常见的杀菌剂, 多效唑为植物生长调节剂, 通过优化分离条件, 实现了几种手性农药对映体的基线拆分。6 种手性农药中, 腈菌唑和双苯三唑醇在纤维素手性柱上的拆分尚未见报道。此外, 还进一步对比了 Chiralcel OD-H 和 Chiralcel OJ-H 2 种手性柱的分离效果, 对应的手性识别机理进行了探讨, 相关研究对三唑农药及其他手性化合物的对映体分离有着较好的参考价值。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

日本岛津 LG-20AB 型高效液相色谱仪, 配置 LG-20AB 二元泵, DGU-20A3 真空脱气机, SPD-20A 紫外检测器, C70-1AS 柱温箱及 LG-solution 色谱工作站; KUDOS-SK5200LHC 超声波清洗器, 上海科导超声仪器有限公司提供; 津腾溶剂过滤器, 滤杯 300 mL, 溶剂瓶 1 000 mL, 天津市腾达过滤器厂提供; 98-1-B 型电子调温电热套, 天津市泰斯特仪器有限公司提供。

分析纯正己烷, 天津大茂化学试剂厂提供; 分析纯异丙醇, 天津科密欧化学试剂有限公司提供。

### 1.2 样品

三唑酮(triadimefon)、腈菌唑(mylobutanil)、多效唑(paclobutrazol), 国家农药质量监督检验中心提供; 烯唑醇(dimiconazole)、粉唑醇(flutriafol)、双苯三唑醇(bitertanol), 购自上海市农药研究所。手性农药的立体结构见图 1。

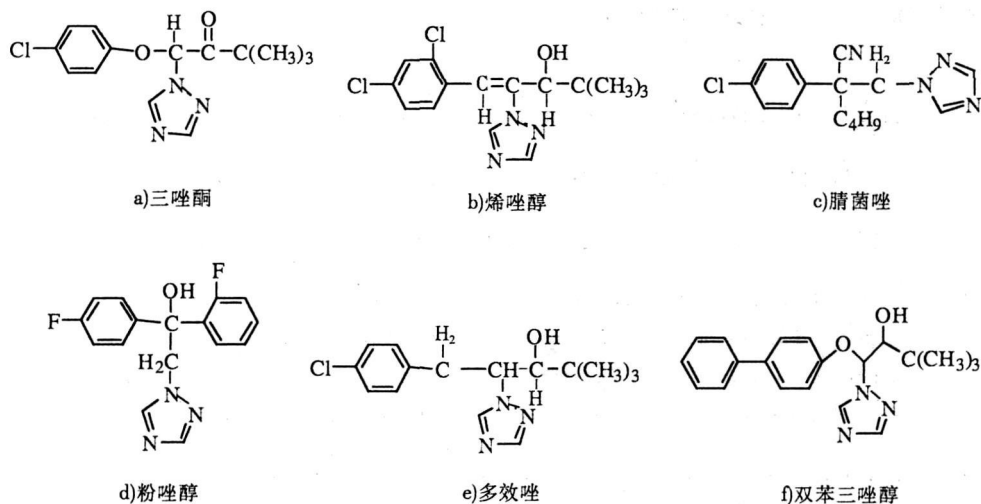


图 1 手性农药结构

Fig. 1 Structures of chiral pesticides

### 1.3 手性柱

采用 DA ICCEL Chemical Industries 公司的纤维素衍生物手性柱: Chiralcel OD-H 手性柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), Chiralcel OJ-H 手性柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)。手性固定相的结构见图 2。

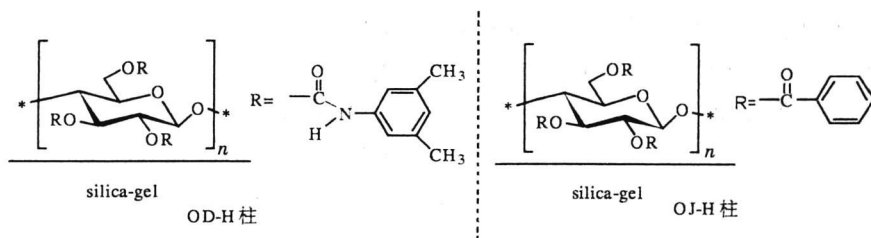


图 2 纤维素手性固定相的结构

Fig. 2 Structures of cellulose based CSPs

## 1.4 色谱条件

采用正相液相色谱, 流动相为正己烷/ 异丙醇( 重蒸后), 所有色谱分离均在 20 °C 进行, 试剂及药品用前均经 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤, 流速为 0.8 mL/min, 进样量为 20  $\mu\text{L}$ 。

## 2 结果与讨论

### 2.1 化合物的手性分离

腈菌唑、三唑酮、烯唑醇和粉唑醇均含有一个手性中心 2 个对映异构体。4 种农药中, 三唑酮和烯唑醇在 OD-H 和 OJ-H 两根手性柱上均可实现基线分离。腈菌唑在 OD-H 柱上基本没有分离效果, 但在 OJ-H 固定相上很容易实现拆分, 图 3 给出了以  $V(\text{正己烷}) : V(\text{异丙醇})$  为 100 : 10 的溶液为流动相时腈菌唑在 OJ-H 柱上的分离结果, 该条件下 2 个对映体的分离度达到 3.656。粉唑醇则在 OD-H 手性柱上达到了基线分离, 在 OJ-H 固定相上 2 个对映体无法分离。图 4 给出了粉唑醇在 OD-H 柱上的分离结果, 图 3 和图 4 中采用的流速为 0.8 mL/min。

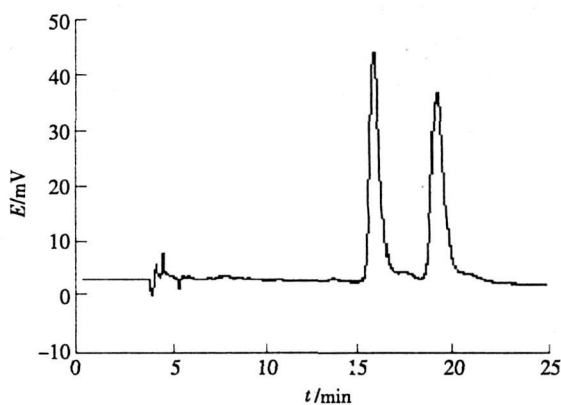
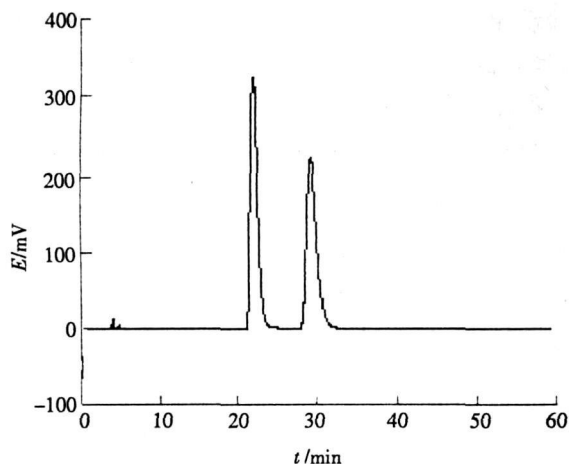


图 3 腈菌唑在 Chiralcel OJ-H 柱上的分离

Fig.3 HPLC separation of myclobutanil on OD-H column

图 4 粉唑醇在 Chiralcel OD-H 柱上的分离

Fig.4 HPLC separation of flutriafol on OJ-H column

多效唑和双苯三唑醇均含有 2 个手性中心, 应有 4 个对映异构体, 但一般市售的样品中只含有 2 个对映体。为了进一步确定其对映体个数, 笔者采用硅胶柱( 非手性柱) 对多效唑和双苯三唑醇样品进行了分离。结果显示, 其在硅胶柱上的 HPLC 分离谱图只存在一个峰, 从而证明了多效唑和双苯三唑醇的样品中确实只含有 2 个对映异构体。通过优化分离条件, 该 2 种农药在 OD-H 和 OJ-H 两根手性柱上均可实现基线分离。几种手性农药的分离结果见表 1 和表 2。

表 1 手性农药在 Chiralcel OD-H 柱上的分离结果

Tab.1 Separation results of chiral pesticides on Chiralcel OD-H column

化合物	波长/ nm	流动相 体积比值	容量因子		分离因子	分离度
			$k_1'$	$k_2'$		
三唑酮	225	100: 4	1.918	2.506	1.307	3.617
烯唑醇	258	100: 5	2.459	2.952	1.184	1.782
腈菌唑	220	100: 16	11.228	—	—	—
粉唑醇	262	100: 20	2.707	3.679	1.359	3.552
多效唑	225	100: 2	9.515	10.899	1.145	1.835
双苯三唑醇	254	100: 3	4.739	5.313	1.221	1.524

注: 流动相为正己烷/ 异丙醇。

表 2 手性农药在 Chiralcel OJ-H 柱上的分离结果

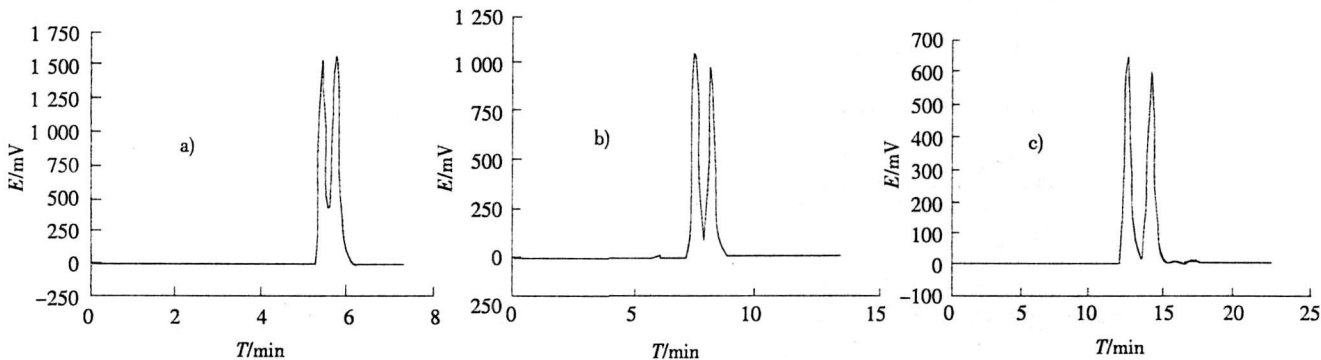
Tab. 2 Separation results of chiral pesticides on Chiralcel OJ-H column

化合物	波长/nm	流动相 体积比值	容量因子		分离因子	分离度
			$k_1'$	$k_2'$		
三唑酮	225	100: 10	1.736	2.092	1.187	2.399
烯唑醇	258	100: 0.8	8.601	9.944	1.156	1.503
腈菌唑	220	100: 10	4.303	6.038	1.403	3.656
粉唑醇	262	100: 10	4.416	—	—	—
多效唑	225	100: 10	1.287	3.606	2.802	4.047
双苯三唑醇	254	100: 10	4.322	7.505	1.737	3.701

注: 流动相为正己烷/异丙醇。

## 2.2 流动相极性对分离效果的影响

在对三唑类手性农药的拆分中, 笔者均采用正己烷为流动相, 异丙醇为极性改性剂。一系列的优化实验表明流动相中异丙醇极性溶剂的浓度对手性农药的分离效果有很大影响, 随着异丙醇浓度的降低, 保留因子和分离度都在逐渐增大。类似结果也见于有机氯和稻丰散杀虫剂等手性农药的对映体拆分中<sup>[4-6]</sup>, 低极性流动相有利于对映体拆分效果的提高。图 5 给出了烯唑醇在不同流动相比例下的 HPLC 谱图, 其流速为 0.8 mL/min。



a)  $-V(\text{正油醚}): V(\text{异丙醇}) = 100: 20$ ; b)  $-V(\text{石油醚}): V(\text{异丙醇}) = 100: 10$ ; c)  $-V(\text{石油醚}): V(\text{异丙醇}) = 100: 5$

图 5 烯唑醇在 Chiralcel OD-H 柱上的分离

Fig. 5 HPLC separation of diniconazole on chiralcel OD-H column

## 2.3 不同手性柱的对比及机理的讨论

手性化合物与手性固定相间的作用力通常用“三点作用”模式来描述<sup>[7-8]</sup>, 手性固定相与溶质之间可能存在的作用力有偶极-偶极相互作用、氢键作用、 $\pi-\pi$ 电子相互作用及分子间范德华相互作用力等, 此外固定相本身结构所形成的手性空腔与对映体分子间还存在的“立体匹配”包结作用, 这些作用力的综合结果将导致 2 个对映体与固定相之间形成的非对映体络合物的稳定性产生差异, 从而得到分离<sup>[9]</sup>, 这种差异性越大, 实现手性分离的可能性越大。

本文研究结果显示纤维素类固定相对手性三唑类农药有较好的识别能力, 在 Chiralcel OD-H 手性柱上, 三唑酮、烯唑醇、粉唑醇、多效唑、双苯三唑醇 5 种农药可达到基线分离; Chiralcel OJ-H 手性柱则基线拆分了三唑酮、烯唑醇、腈菌唑、多效唑、双苯三唑醇 5 种农药, 详见表 1 和表 2。

与 OJ-H 固定相比, OD-H 固定相在苯环上引入了氨基和甲基, 而氨基易与样品分子中的羰基氧原子、氯原子、氰基等形成较强的氢键作用。此外酰基和甲基的给电子作用使得 OD-H 固定相中苯环的电子云密度大于 OJ-H 柱, 结构的不同导致拆分结果存在不同。值得注意的是粉唑醇的手性结构仅源于 2 个苯环上氟原子取代位置的不同, 该化合物在 OD-H 手性柱上仍可以得到很好的分离, 其原因可能是氟与氨基存在较强的氢键作用力, 取代位置不同造成氢键作用力大小不同, 从而得到手性识别。而 OJ-H 没有氨基则没有这种氢键作用力, 因此对粉唑醇几乎没有手性识别能力。

(下转第 291 页)

$$\begin{aligned}
 & 0 \leq x_1 \leq 10, \quad 0 \leq x_2 \leq 5, \\
 \text{s. t. } & \min(-3y_1 + 9y_2, -y_1 - 2y_2), \\
 & y_1 - y_2 - x_1 \leq 3, \quad y_1 - y_2 + x_2 \leq 4, \\
 & 0 \leq x_1 \leq 10, \quad 0 \leq x_2 \leq 5, \\
 & 0 \leq y_1 \leq 15, \quad 0 \leq y_2 \leq 20,
 \end{aligned}$$

其中,  $x = (x_1, x_2)'$ ,  $y = (y_1, y_2)'$ 。结合本文算法, 可得  $x = (1, 0)^T$ ,  $y = (4, 0)^T$ 。

例2

$$\begin{aligned}
 & \min(-x - y, x^2 + (y - 10)^2), \\
 \text{s. t. } & 0 \leq x \leq 15, \\
 & \min(y^2, y(x - 30)), \\
 \text{s. t. } & y - x \leq 0, \quad 0 \leq y \leq 15.
 \end{aligned}$$

用本文算法可得  $x = -11.9975$ ,  $y = 51.9948$ 。

## 4 结 语

把一个二层的优化问题转化为单层的优化问题, 使原问题简单化。算例结果表明, 该算法是有效可行的, 为复杂的二层多目标规划问题提供了一种新的便捷、易于操作的求解方法。

### 参考文献:

- [1] GERFRION A M, HOGAN W W. Coordination of Two-level Organization with Multiple Objective[M]. New York: Academic, 1972.
- [2] SHIMIZU K A. Hierarchical multi objective decision systems for general resource allocation problem[J]. J Opti Theory Appl, 1981, 35(4): 517-533.
- [3] 唐太宏, 陈 廷. 多层决策问题算法的综述[J]. 控制与决策, 1989, (4): 49-56.
- [4] 夏洪胜, 徐南荣, 仲伟俊, 等. 具有 Stackelberg 主从对策的下层多人无关联的两层决策方法[J]. 系统与电子技术, 1994, (1): 125-128.
- [5] 杨丰梅. 双层多目标规划问题的 Pareto 有效解[J]. 北京化工学院学报, 1994, 21(3): 79-85.
- [6] 胡毓达. 实用多目标最优化[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1990.

(上接第 282 页)

### 参考文献:

- [1] 刘月启, 周文峰, 韩小茜, 等. 直链淀粉-三(氨基甲酸苯酯)手性固定相的手性拆分性能[J]. 分析测试学报, 2001, 20(1): 43-45.
- [2] YASHIMA E, OKAMOTO Y. Chiral discrimination on polysaccharides derivatives[J]. Bulletin of the Chemical Society of Japan, 1995, 68: 3289-3307.
- [3] 邵保海, 徐秀珠, 吕建德, 等. 纤维素衍生物手性固定相用于高效液相色谱对映体分离[J]. 分析化学, 2003, 31(2): 239-244.
- [4] WILLIAM L, CHAMPION JR, JAMES LEE, et al. Liquid chromatographic separation of the enantiomers of trans-chlordane, cis-chlordane, heptachlor, heptachlor epoxide and  $\alpha$ -hexachlorocyclohexane with application to small-scale preparative separation[J]. J Chromatography A, 2004, 1024: 55-62.
- [5] 王 萍, 周志强, 叶贵标, 等. 高效液相色谱纤维素类手性固定相对外消旋稻丰散的拆分[J]. 农药, 2004, 43(12): 542-546.
- [6] WAINER I W, ALEMBIK M C, SMITH E. Resolution of enantiomeric amides on a cellulose tribenzoate chiral stationary phase: Mobile phase modifier effects on retention and stereo-selectivity[J]. J Chromatography, 1987, 388: 65-74.
- [7] PIRKLE W H, POCHAPSKY T C. Consideration of chiral recognition relevant to the liquid chromatographic separation of enantiomers[J]. Chemical Review, 1989, 89: 347-362.
- [8] MEYER V R, RAIS M. A vivid model of chiral recognition[J]. Chirality, 1989, (1): 167-169.
- [9] 崔 欣, 王 斌. 高效液相色谱法对二氢吡喃酮衍生物的手性拆分[J]. 分析化学, 2002, 30(9): 1099-1101.