

手性流动相添加剂法对两种手性化合物的直接拆分

杨 丽¹, 廖 勇², 周志强¹, 江树人¹, 王 鹏¹

(1. 中国农业大学 应用化学系, 北京 100094; 2. 中国科学院 遗传与发育生物所, 北京 100101)

摘 要: 以 β -环糊精为手性流动相添加剂, 于 C_8 反相柱上建立了 2 种手性农药(包括杀菌剂己唑醇和杀虫剂 *SR*-生物丙烯菊酯)对映体的高效液相色谱拆分方法。探讨了 β -环糊精浓度、流动相 pH、有机改性剂种类等因素对手性拆分的影响。结果表明: 在流动相为 β -环糊精水溶液、磷酸钠缓冲液(0.05 mol/L)、乙腈、三乙胺(体积比 50 : 30 : 20 : 0.5)条件下, 己唑醇对映体在 pH 为 7.4, β -环糊精溶液浓度为 7 mmol/L 时, *SR*-生物丙烯菊酯对映体在 pH 为 6.4, β -环糊精浓度为 10.5 mmol/L 时得到最佳分离。

关键词: 对映体分离; 反相高效液相色谱法; β -环糊精; 手性流动相添加剂; 手性农药; 农药

中图分类号: O657.72; S482.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2004)05-0133-03

Separation of Enantiomers of Two Pesticides Using β -CD as A Chiral Mobile Phase Additive in High-performance Liquid Chromatography

YANG Li¹, LIAO Yong², ZHOU Zhi-qiang¹, JIANG Shu-ren¹, WANG Peng¹

(1. Department of Applied Chemistry, China Agricultural University, Beijing 100094, China; 2. Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: A simple and effective HPLC method for the separation of enantiomers of two pesticides (hexaconazole and *SR*-bioallethrin) was developed by using β -cyclodextrin(β -CD) as a chiral mobile-phase additive(CMPA) and a C_8 reversed-phase column. The effects of β -CD concentration, mobile-phase pH and organic modifier on chiral separation were studied. Excellent enantioseparation can be achieved for hexaconazole and *SR*-bioallethrin at pH 7.4 and 6.4 with a β -CD concentration of 7 mmol/L and 10.5 mmol/L in a mobile phase consisting of β -CD, sodium phosphate buffer(0.05 mol/L), acetonitrile and triethylamine in a volume ratio of 50 : 30 : 20 : 0.5.

Key words: Enantiomeric separation; Reversed phase HPLC; β -Cyclodextrin(β -CD); Chiral mobile phase additive(CMPA); Chiral pesticide; Pesticide

许多合成的农药具有不对称中心, 并以消旋体形式出售。手性农药的两个对映体可能具有不同的药理和毒理作用, 有的甚至具有毒副作用。因此, 开发药效高、用药省、三废少、对作物和生态环境更安全的单一手性农药已成为 21 世纪农药发展的主要方向之一。而建立快速、有效的手性农药对映体的拆分方法则对手性农药的光学纯度检测及不对称合成具有重要意义^[1,2]。

手性流动相添加剂法是高效液相色谱法(HPLC)手性分析的一种重要方法, 其特点是拆分光学对映异构体不需以手性试剂衍生, 也不需价格昂贵的手性柱, 而是将手性试剂添加到流动相中, 用普通的正相或反相柱分离, 由于方法简单有效, 已引起了广泛的注意^[3]。

本文选用价格低廉, 且适用于中等大小分子分离的 β -环糊精(β -CD)为手性选择剂, 在 C_8 反相柱上对 3 种具有一个手性中心的外消旋化合物杀菌剂己唑醇, 杀虫剂 *SR*-生物丙烯菊酯, 除草剂啶禾灵进行了拆分研究, 并考察了 β -环糊精浓度、流动相 pH、有机改性剂种类等因素对手性拆分的影响。结果表明, 本方法成功地首次拆分了杀菌剂己唑醇, 杀虫剂 *SR*-生物丙烯菊酯, 但对除草剂啶禾灵没有拆分效果。Spitzer T^[4] 和杨丽萍^[5]用正相 HPLC 法拆分了杀菌剂己唑醇, 周志强^[6]等也用正相 HPLC 法对杀虫剂 *SR*-生物丙烯菊酯进行了拆分。但用手性流动相添加剂反相 HPLC 法对己唑醇和 *SR*-生物丙烯菊酯的拆分未见报道。

收稿日期: 2003-08-17; 修回日期: 2004-05-26

作者简介: 杨 丽(1971-), 女, 重庆人, 博士研究生; 周志强, 联系人。

1 实验条件

1.1 仪器与试剂

Agilent 1100 HPLC(配有可调紫外检测器, 四元泵, 10 μ L 进样器)。数据处理在 Agilent 化学工作站进行。 β -CD 购自北京奥博星生物技术有限公司; 乙腈购自天津市康科德有限公司, 色谱纯; 磷酸二氢钠、磷酸氢二钠购自北京化学试剂公司; 尿素为上海生工生物工程有限公司生产; 所用水为二次去离子水。己唑醇、喹禾灵外消旋体为中国农业大学应化系提供; *SR*-生物丙烯菊酯((*SR*)-3-烯丙基-2-甲基-4-氧代环戊-2-烯基(1*R*,3*R*)-2,2-二甲基-3-(2-甲基-1-丙烯基)环丙烷羧酸酯)为河北省康达农药厂生产(其中 *S* 型的质量分数为 72%, *R* 型的质量分数为 21%); C_8 反相柱为北京分析仪器厂制造。拆分样品的化学结构列于图 1。

1.2 色谱条件

流动相组成为 β -环糊精水溶液 50%, 磷酸二氢钠 - 磷酸氢二钠缓冲液 30%, 乙腈 20%, 三乙胺 0.5%, 所有流动相均经 0.45 μ m 滤膜过滤, 并超声除气。进样量为 10 μ L。流速为 1 mL/min。己唑醇、*SR*-生物丙烯菊酯的紫外检测波长分别为 220、230 nm。室温 20 $^{\circ}$ C, 死时间以 NH_4NO_3 计。

2 结果与讨论

2.1 缓冲液 pH 对拆分的影响

研究了不同 pH 条件对己唑醇、*SR*-生物丙烯菊酯手性分离的影响。结果表明, 在 β -CD 浓度为 7 mmol/L 条件下, pH 分别为 5.8、6.4、7、7.4、8 时己唑醇的 α 、 R_s 为 (1.565, 6.759), (1.663, 7.766), (1.701, 7.853), (1.718, 8.027), (1.519, 7.033); 在 β -CD 浓度为 10.5 mmol/L 条件下, *SR*-生物丙烯菊酯的 α 、 R_s 为 (1.217, 1.862), (2.719, 17.01), (2.532, 15.476), (1.983, 9.858), (1.978, 9.12) (见图 2)。由此可见, 己唑醇、*SR*-生物丙烯菊酯手性分离都有一个最佳 pH, 分别在 pH 7.4、6.4 时达到最佳拆分效果, 当 pH 大于或小于最佳 pH 时, 选择性因子(α)、分离度(R_s)均下降。己唑醇、*SR*-生物丙烯菊酯在 pH 7.4、6.4 时拆分图见图 3。

2.2 β -环糊精浓度对拆分的影响

本文还考察了 β -CD 浓度对己唑醇、*SR*-生物丙烯菊酯手性分离的影响, 结果表明 β -CD 浓度对手性化合物的拆分具有重要作用。在一定浓度范围内, 随着 β -CD 浓度增大, 己唑醇、*SR*-生物丙烯菊酯 α 、 R_s 随之增大, 但增大到一定程度, 又随 β -CD 浓度增大而下降(见图 4)。在 pH 为 7.4 条件下, β -CD 浓度为 0、3.5、7、10.5、14、17.5 mmol/L 时, 己唑醇的 α 、 R_s 为 (1, 0), (1.75, 9.248), (1.804, 9.359), (1.769, 8.518), (1.755, 8.329), (1.706, 7.557); 在 pH 为 6.4 条件下, 在 β -CD 浓度为 0、3.5、7、10.5、14 mmol/L 时, *SR*-生物丙烯菊酯的 α 、 R_s 为 (1, 0), (2.479, 10.771), (2.719, 17.01), (3.626, 22.934), (2.55, 13.086)。由图 4 可知 β -

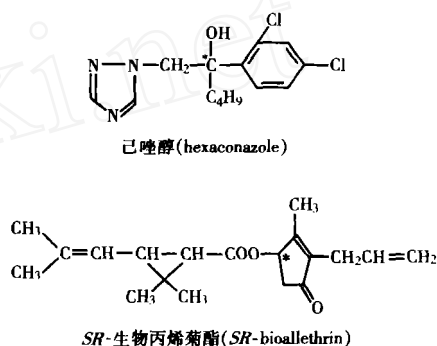


图 1 2 种农药的结构

Fig. 1 The structures of the investigated pesticides

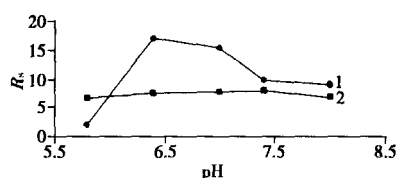


图 2 不同 pH 值对己唑醇和 *SR*-生物丙烯菊酯分离的影响

Fig. 2 Effect of pH on the separation of hexaconazole and *SR*-bioallethrin
1. *SR*-bioallethrin; 2. hexaconazole

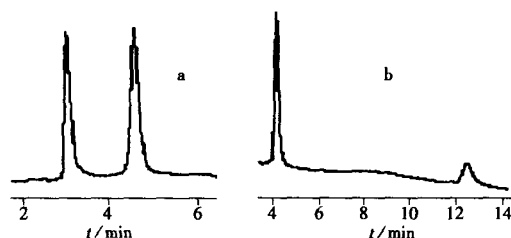


图 3 己唑醇(a)和 *SR*-生物丙烯菊酯(b)的拆分图
Fig. 3 The chromatograms of hexaconazole and *SR*-bioallethrin enantiomers

a. pH 7.4, β -CD 7 mmol/L; b. pH 6.4, β -CD 10.5 mmol/L

CD 浓度分别为 7、10.5 mmol/L 时己唑醇、SR- 生物丙烯菊酯达到最佳分离效果。 β -CD 浓度太高时, 由于溶解度的限制, 会影响其在流动相中的溶解, 使流动相变浑浊。

2.3 尿素对拆分的影响

尿素为 β -CD 常用的增溶剂, 本研究在流动相中分别加入 0.2、0.4、0.8、1 mol/L 浓度的尿素, pH 值分别在 5.8、6.4、7、7.4、8 的条件下进行实验, 发现效果不佳, 虽然检测到对映异构体峰, 但峰形很差。故在本实验中未添加尿素。

2.4 三乙胺改性剂对拆分的影响

三乙胺是常用的色谱改性剂之一, 能够显著改善色谱峰对称性, 减小拖尾峰, 本文加入 5~20 mmol/L 三乙胺后, 对映异构体峰明显改善, 达到良好拆分。拖尾原因可能在于含有硅羟基的填料使样品保留值延长, 峰形变宽、拖尾, 而加入的三乙胺与 C_{18} 柱上的硅羟基相互作用, 从而掩蔽了样品与 C_{18} 柱上的硅羟基相互作用, 从而改善了峰形。

参考文献:

- [1] 陈 平, 纳鹏君, 韩小茜, 等. 禾草灵对映异构体在高效液相色谱手性固定相上的拆分[J]. 分析测试学报, 2003, 22(3): 39 - 41.
- [2] 刘莹峰, 王忠友, 周明辉, 等. HPLC 法拆分高效盖草能乳油中吡氟禾灵的光学异构体[J]. 分析测试学报, 2004, 23(2): 118 - 118.
- [3] HEALY L O, MURRIHY J P, TAN A, *et al.* Enantiomeric separation of *R, S*-naproxen by conventional and nano-liquid chromatography with methyl- β -cyclodextrin as a mobile phase additive[J]. J Chromatogr, A, 2001, 924: 459 - 464.
- [4] SPITZER T, YASHIMA E, OKAMOTO Y. Enantiomer separation of fungicidal triazolyl alcohols by normal phase HPLC on polysaccharide-based chiral stationary phases[J]. Chirality, 1999, 11: 195 - 200.
- [5] 杨丽萍, 李树正, 李煜昶, 等. 三种三唑类杀菌剂对映体生物活性的研究[J]. 农药学报, 2002, 4(2): 67 - 70.
- [6] 周志强, 刘 晶, 王 敏, 等. 生物丙烯菊酯在手性柱上的拆分[J]. 分析化学, 2002, 30(4): 504 - 504.

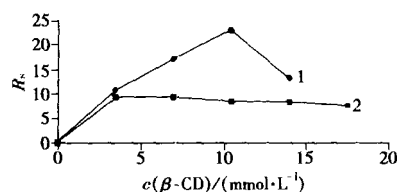


图 4 不同 β -CD 浓度对己唑醇和 SR- 生物丙烯菊酯 α 和 R_s 的拆分影响

Fig. 4 Effect of β -CD concentration on the separation of hexaconazole and SR-bioallethrin enantiomers

1. SR-bioallethrin; 2. hexaconazole

《中国无机分析化学文摘》

2005 年征订启事

《中国无机分析化学文摘》经国家科委批准, 1984 年创刊, 公开发刊(刊号 ISSN 1003 - 5249/CN11 - 1835/06), 本刊以文摘、简介及题录形式报道国内公开发行的有关无机分析化学的期刊 300 余种及各种会议论文集、新标准、新书目等, 年收录文献 3000 篇左右, 栏目分为: 一般问题、重量法与滴定法、光度法、电化学分析、光谱分析、色谱分析、物相分析、气体分析、活化分析、质谱分析、分离方法、贵金属分析专栏等十二大类。为便于读者检索, 每期附有按被检测元素及阴离子编排的索引。读者对象: 冶金、有色金属、地质机械、半导体材料、宇航、核技术、石油、化工、建材、环保、食品、农林、医药、卫生防疫、商品检验等部门分析工作者及有关院校师生。

在每次全国科技文献检索期刊评比中本刊均获奖, 本刊是了解国内无机分析动态的窗口; 是检索国内文献的理想工具; 是普及推广新技术的阵地; 是分析工作者的助手。

本刊 2005 年出版四期(季刊)及 2005 年年度主题与作者索引一本, 激光照排, 胶版印刷, 大 16 开, 每期 100 页左右, 定价 12.00 元, 全年订费为 60.00 元(含邮费)。2004 年仍由编辑部发行。欲订阅者请向编辑部索取订单并汇款至: 北京西直门外文兴街 1 号 北京矿冶研究总院《中国无机分析化学文摘》编辑部。邮政编码: 100044。电话: (010) 68333366 - 3415。