

环氧啉含量的 HPLC 法测定方法

戴丽雯¹, 陈文利², 巨修练^{1*}

(1. 武汉工程大学化工与制药学院, 湖北省新型反应器与绿色化学工艺重点实验室, 湖北 武汉 430074;

2. 武汉工程大学分析测试中心, 湖北 武汉 430074)

摘要:建立了环氧啉的高效液相色谱(HPLC)的测定方法,在 C_{18} 色谱柱(C_{18} 250 mm \times 4.6 mm, 5 μ g/mL)上,以甲醇-水(25:75, V/V)为流动相,在流速为 1.0 mL/min, 室温条件下, 220 nm 波长检测, 环氧啉标准样品分离效果良好. 环氧啉溶液在 43.2~345.6 μ g/mL 范围内浓度与峰面积线性关系良好, 相关系数 $r=0.999\ 92$; 方法的检测限为 0.4 μ g. 该方法简单快速, 准确, 可靠, 为环氧啉的工业生产质量控制提供一定的保证.

关键词:环氧啉; 高效液相色谱法; 质量控制

中图分类号: R927.2

文献标识码: A

doi: 10.3969/j.issn.1674-2869.2011.12.006

0 引言

环氧啉(Cycloxylin)其化学名称为 1-(2,3-环氧丙基)-N-硝基亚咪唑烷-2-亚胺,它是基于计算机辅助药物分子设计(CADD)方法,利用 CoMFA 模拟结果,以 4 个含不同药效团的活性中间体为原料合成的一系列新烟碱类化合物中杀虫活性突出的创新的化合物,环氧啉杀虫谱广,防治效果与吡虫啉相近^[1],是第四代新烟碱类杀虫剂.

新烟碱类杀虫剂的结构主要由 4 部分组成:(1)杂环基团;(2)桥链部分;(3)功能基团,主要有硝基烯胺($-N-C(\text{or } N)=CH-NO$)、硝基胍($-N-C(\text{or } N)=N-NO$),氰基脒($-N-CH=N-CN$)三类;(4)氮环状或开环部分,环的大小对杀虫剂生物活性影响很大,一般五元环或六元环的活性较高.新烟碱类杀虫剂是乙酰胆碱受体抑制剂,主要作用于昆虫神经,其作用机制独特,高效,低毒,对环境安全,是取代高毒有机磷,有机氯类杀虫剂的最佳品种^[2].

作为第一代的新烟碱类杀虫剂的吡虫啉,它是目前全球市场上销量最大杀虫剂品种.但是长期使用单一化合物,会使害虫产生抗性,吡虫啉也不例外.文献报道,吡虫啉的抗性的形成可能与害虫解毒能力提高和靶标部位对毒素敏感性降低有关^[3].另外,吡虫啉由于含有吡啶环,生产过程中会产生大量的污染物,难以治理.环氧啉可以有效

的克服以上缺点,生产成本仅为吡虫啉的 1/3,且与吡虫啉具有相似的杀虫谱及杀虫效果,且持效性高于吡虫啉,毒性比吡虫啉更低,结构新颖,作为第四代烟碱杀虫剂,具有较大的开发前景.

根据环氧啉的结构,虽有一些方法可检测,但鉴于环氧啉为新开发的化合物,本文参考并查阅了相关的烟碱类杀虫剂吡虫啉的高效液相色谱法^[4],经过实验采用了合适的色谱条件,直接测定环氧啉的含量.本方法不需要繁杂的化学操作,简便快速,重复性极令人满意.经验证该方法对实际复杂样品的分离效果好,可靠性高,抗干扰性强.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

甲醇为色谱纯;水为二次蒸馏水;环氧啉标样^[5](自制,含量为 98.15%);样品为环氧啉原药及 10% 可湿性粉剂.

Waters2695 液相色谱仪;二极管阵列检测器.

1.2 色谱条件

流动相为甲醇-水(25:75, V/V)溶液,流速为 1.0 mL/min, C_{18} 色谱柱(C_{18} 250 mm \times 4.6 mm, 5 μ g/mL),检测波长为 220 nm,柱温为室温,进样量 10 μ L.

1.3 对照品溶液

精密称取干燥至恒重的环氧啉标样 0.108 0 g,置于 100 mL 容量瓶中,用甲醇溶解,用流动相定容

收稿日期:2011-09-26

作者简介:戴丽雯(1985-),女,湖北武汉人,硕士研究生.研究方向:药物分析.

指导老师:巨修练,男,教授,博士,博士研究生导师.研究方向:计算机药物辅助设计、新农药研发、生物活性测试.*
通信联系人

至刻度,摇匀,得贮备液。

1.4 样品溶液

精密称取环氧喹原药 0.105 2 g,置于 50 mL 的容量瓶中,用甲醇溶解并用流动相定容至刻度,摇匀。准确移取该溶液 10.0 mL 置于 50 mL 的容量瓶中,并用流动相定容至刻度,即为 1[#] 样品溶液。

精密称取质量分数 10% 可湿性粉剂 0.757 0 g,置于 50 mL 的容量瓶中,用甲醇溶解,在恒定的温度下超声 5 min,用流动相定容至刻度,摇匀。然后准确移取该溶液 10.0 mL 置于 50 mL 的容量瓶中,并用流动相定容至刻度(注:移取时用孔径 0.45 μm 的过滤膜进行过滤),作为 2[#] 样品溶液。

2 结果与讨论

表 1 环氧喹标准工作曲线测定结果

Table 1 Determination result of Epoxy morpholine about the working graph

环氧喹质量浓度/ ($\mu\text{g/mL}$)	43.2	86.4	129.6	172.8	216	259.2	302.4	345.6
峰面积 1	9.878 9	14.869 8	26.020 2	30.572 7	37.822 1	44.554 9	52.078 7	60.819 5
峰面积 2	7.985 6	15.063 4	23.578 6	31.234 5	38.604 1	46.552 3	53.678 5	59.587 9
平均值	8.928 7	14.966 6	24.799 4	30.903 6	38.238 6	45.553 6	52.878 6	60.203 7

由表 1 数据可知,以环氧喹浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,进行线性回归,线性回归方程为: $Y = 1.603\ 593 + 0.169\ 560\ 5X$, 相关系数为 0.999 92。结果表明,环氧喹检测限为 43.2 ~ 345.6 $\mu\text{g/mL}$ 时,峰面积与浓度成良好的线性关系。对照品溶液色谱图见图 1。

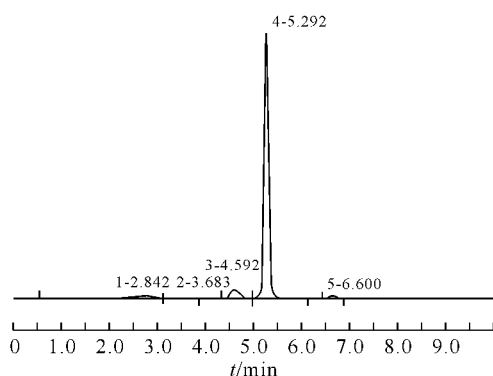


图 1 标准溶液的色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of standard solution

2.3 精密度及重现性

取环氧喹对照品稀溶液,连续进样 8 次,每次进样 10 μL ,环氧喹的峰面积积分值的 RSD 为 0.908%。

分别取 1[#] 样品稀溶液,2[#] 样品稀溶液,每次进样 10 μL ,重复进样 8 次,环氧喹的峰面积积分值的 RSD 分别为 0.912%,0.895%。

2.1 方法耐用性的考察

在上述色谱条件下,改变流动相的配比,采用相同的色谱柱,考察条件的耐用性,将流动相甲醇-水分别设定为 35:65,30:70,25:75,20:80,15:85,10:90 时,结果显示甲醇-水之比为 25:75 时,环氧喹与其杂质的分离度高,选择性也较好,并符合溶剂选择性分类三角形图。

2.2 线性关系研究

准确移取对照品贮备液 1,2,3,4,5,6,7,8 mL 分别置于 25 mL 的容量瓶中,用流动相定容至刻度,摇匀,每次进样 10 μL ,以峰面积为纵坐标,相应的浓度为横坐标进行线性回归,结果见表 1。

2.4 回收率实验

准确称取环氧喹原药 0.108 0 g,置于 100 mL 容量瓶中,用甲醇溶解并用流动相定容至刻度,分别取 10 mL,置于 3 个 100 mL 的容量瓶中,再分别取 20 mL 加入另外 3 个 100 mL 的容量瓶中,然后按顺序精密加入 0.5,1,2,4,6,8 mL 的对照品贮备液,用水稀释至刻度,摇匀,进样,读取峰面积,从标准曲线上求得含量并计算回收率。其结果见表 2。

表 2 环氧喹回收率实验 (n=6)

Table 2 Recovery test of Epoxy morpholine

样品/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回收 率/%	RSD/%
10.80	0.55	11.34	98.19%	99.65%	0.878%
10.80	1.10	11.91	100.91%		
10.80	2.20	12.98	99.09%		
21.60	4.40	25.99	99.78%		
21.60	6.60	28.21	100.16%		
21.60	8.80	30.38	99.78%		

2.5 样品稳定性实验

将环氧喹原药和质量分数 10% 可湿性粉剂分别储存在冰箱内 7,14,21,28 d,按上述方法测定,分析结果显示环氧喹原药和质量分数 10% 可湿性粉剂的含量无明显变化。

2.6 样品的含量测定

分别取 1[#] 样品,2[#] 样品,分别在实验的色谱

条件下(C_{18} 色谱柱, 25% 甲醇—75% 水的流动相, 检测波长 220 nm, 流速 1.0 mL/min, 室温)测定环氧咪含量, 进样 10 μ L, 读取峰面积, 按外标法计算含量, 结果见表 3。

表 3 样品分析

Table 3 Analysis of samples

样品编号	检测量					平均含量
1# 样品	83.44%	82.53%	85.97%	86.23%	88.45%	85.32%
2# 样品	8.74%	10.42%	11.46%	8.03%	9.45%	9.32%

图 2, 3 分别为 1# 样品溶液的色谱图, 2# 样品溶液的色谱图。

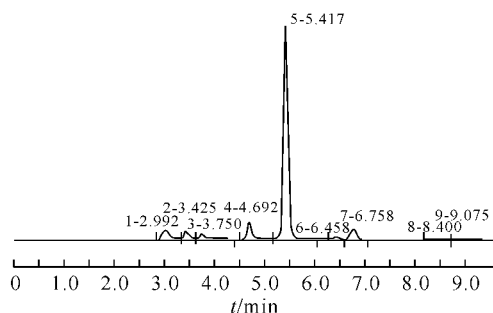


图 2 1# 样品溶液色谱图

Fig. 2 HPLC chromatogram of 1# sample solution

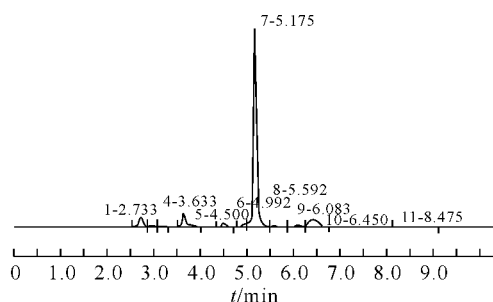


图 3 2# 样品溶液色谱图

Fig. 3 HPLC chromatogram of 2# sample solution

3 结 语

本研究通过实验建立的环氧咪含量的 HPLC 的测定方法, 得到了理想的峰形及高的分离度. 该分析法准确, 方便. 本研究最佳色谱条件为: C_{18} 色谱柱 (C_{18} 250 mm \times 4.6 mm, 5 μ g/mL), 流动相为甲醇—水 (25:75, V/V), 流速为 1.0 mL/min, 室温, 220 nm 检测波长. 样品中环氧咪原药的平均回收率是 99.65%, 其 RSD 为 0.878%。

参考文献:

- [1] 李黎, 巨修练. 绿色农药环氧咪的开发及应用[J]. 湖北植保, 2009, 115(5): 5-56.
- [2] 杨吉春, 李森, 柴宝山, 等. 新烟碱类杀虫剂最新研究进展[J]. 农药, 2007, 46(7): 433-438.
- [3] 史晓斌, 王鹏. 吡虫啉的抗性现状及其机理研究进展[J]. 农药研究与应用, 2010, 14(2): 1-3.
- [4] 周琴, 吴永凤. 吡虫啉的高效液相色谱法分析[J]. 广东化工, 2004, 31(1): 28-29.
- [5] 巨修练, 卢伦, 李黎. 1-(1,2-环氧丙基)-N-硝基亚咪唑烷-2-基胺的制备及用途: 中国, 200810236885. X [P]. 2009-08-12.

Determination of cycloxylin by HPLC

DAI Li-wen¹, CHEN Wen-li², JU Xiu-lian¹

(1. School of Chemical Engineering & Pharmacy, Hubei Key Laboratory of Novel Reactor and Green Chemical Technology, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430074, China;

2. Center of Analysis and Test, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430074, China)

Abstract: The method for the determination of Cycloxylin by high performance liquid chromatography (HPLC) was established. It used C_{18} column (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ g/mL) to separate the sample, 25% methanol and 75% water as the mobile phase, and the Cycloxylin was detected at 220 nm with the flow rate of 1.0 mL/min at ambient temperature. The result showed that the linear relative coefficient was 0.999 92 while in a range of 43.2—345.6 μ g/mL; the limit of this method was 0.4 μ g. This method was simple, rapid and effective in the quality control for production of Cycloxylin.

Key words: cycloxylin; HPLC; quality control

本文编辑: 张 瑞