

一种三氮唑类杀菌剂中杂质的检测及结构鉴定

刘瑾, 黄山 (中国药科大学, 江苏南京 210009)

摘要 [目的]对一种三氮唑类杀菌剂中的杂质进行分离及结构鉴定。[方法]采用 RP-HPLC 法对该三氮唑类杀菌剂进行成分分析并用硅胶柱色谱法对主要杂质进行分离, 根据质谱、核磁共振和红外谱数据进行结构鉴定。[结果和结论]该三氮唑类杀菌剂中含有 2-(2,4-二氟苯基)-1-(1H-1,2,4-三氮唑-1-基)-2-丙醇, 1-[2-(2,4-二氟苯基)烯丙基]-1H-1,2,4-三氮唑, 2-(2,4-二氟苯基)-1-(4H-1,2,4-三氮唑-4-基)-3-三甲基硅烷基-2-丙醇, 2-(2,4-二氟苯基)-1-氯-2-丙醇。

关键词 三氮唑类杀菌剂; 杂质; 分离; 检测; 结构鉴定

中图分类号 S482.2 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)17-07079-03

Detection and Structural Identification of the Impurities in Fungicide-triazole Derivative

LIU Jin et al (China Pharmaceutical University, Nanjing, Jiangsu 210009)

Abstract [Objective] The aim of this paper was to isolate and identify the impurities in the fungicide-triazole derivative. [Methods] The components were analyzed by using RP-HPLC. The main impurities were separated by silica gel column chromatography, and identified by MS, NMR and IR. [Results and Conclusion] The fungicide-triazole derivative contained 2-(2,4-difluorophenyl)-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol, 1-[2-(2,4-difluorophenyl)allyl]-1H-1,2,4-triazol, 2-(2,4-difluorophenyl)-1-(4H-1,2,4-triazol-4-yl)-3-trimethylsilylpropan-2-ol and 2-(2,4-difluorophenyl)-1-chloropropan-2-ol.

Key words Fungicide-triazole derivative; Impurity; Isolation; Detection; Structure identification

真菌病害是农作物三大病害之一,也是目前最重要的植物病害^[1]。三氮唑类杀菌剂具有一定的植物生长调节活性,通过抑制植物体内赤霉素的合成,消除植物顶端优势,具有增产、早熟、抗倒、抗逆等多种功能。与其他杀菌剂相比,三氮唑类杀菌剂具有高效、广谱、低毒等特点,成为最有前途的杀菌剂类型^[2]。该试验中所检测的三氮唑类杀菌剂是一种含硅和氟的三氮唑衍生物。含硅的三氮唑衍生物能有效抑制真菌繁殖,对谷物的纹枯病和白粉病等由真菌引起的疾病有一定的防治作用^[3-4]。在三氮唑类化合物中,除氯、溴原子外,氟原子也被引入到有活性的结构中,由于它可以使含巯基的酶失活,所以,它的介入提高了农药的活性,已商品化的含氟三氮唑类有粉唑醇、三氟苯唑和氟硅唑等^[5]。

该研究中含硅和氟原子的三氮唑类杀菌剂为:2-(2,4-二氟苯基)-1-(1,2,4)三氮唑基-3-三甲基硅烷基-2-丙醇。该杀菌剂在工业生产中得到的粗品杂质含量很高,需反复精制才能使其纯度提高,且精品中还会含有微量杂质,这样就降低了产品的质量。目前国内尚无该种杀菌剂质量检测及其杂质分离鉴定方面的报道。笔者通过对其杂质进行分离和鉴定,确定杂质结构,找出杂质产生的根源,以便在生产过程中改进工艺,提高产品质量。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器 Agilent1100 型液相色谱仪(美国安捷伦公司),Agilent 可见-紫外检测器,Varianmercury300 型核磁共振仪(美国 Varian 公司),Agilent1100 LC-MSD 高效液相色谱-质谱联用系统(美国安捷伦公司)。

三氮唑类农药为国内某厂生产(批号为 070609P),薄层色谱用硅胶 GF254 和柱色谱用硅胶(50.0~79.1 μm)为青岛海洋化工厂生产,其他所用试剂均为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 色谱条件。色谱柱:Inertsil ODS C18 柱(250.0 mm×4.6

mm, 5 μm); 流动相组成为乙腈:水(V/V, 70:30); 流速:1.0 ml/min; 检测波长:260 nm; 柱温:40 ℃。

1.2.2 色谱系统适用性试验。在“1.2.1”色谱条件下,该农药中各成分峰间分离较好,分离度均大于 115,论塔板数均在 2000 以上(图 1)。

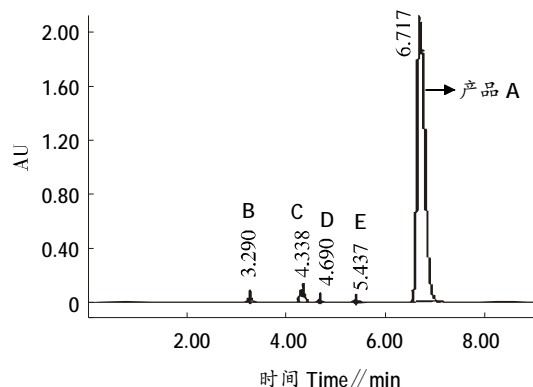


图 1 样品色谱图(254 nm 检测)
Fig. 1 Chromatogram of the sample

1.2.3 工业生产粗品的测定。按“1.2.1”色谱条件,以实验室中精制的农药(面积归一化法测定纯度为 99.81%)作为对照,测得粗品中样品的纯度为 95.49%,色谱图见图 1。笔者进一步对粗品进行研究,结果显示,样品中除主成分 A 外,还含有杂质 B、C、D、E。

1.3 杂质的分离 将 6.053 g 样品用丙酮溶解后硅胶拌样,硅胶柱色谱分离,依次用石油醚:丙酮(体积比为 20:1、10:1、5:1、3:1)洗脱,得到产品 A 及其杂质 B、C、D、E。

2 结果与分析

杂质分离后,经色谱、光谱方法鉴定,推断各杂质结构式如图 2。

2.1 杂质 B 的结构鉴定 杂质 B 色谱见图 3。该杂质为黄色块状固体,mp>200 ℃(乙醇),以石油醚-丙酮(体积比为 2.5:1)为展开剂, R_f=0.35,其光谱数据如下:

¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃)δ: 1.25(3H s Me); 3.10(1H s

基金项目 中国药科大学资助项目。

作者简介 刘瑾(1983-),女,河北唐山人,硕士研究生,研究方向:药物分析。

收稿日期 2008-04-07

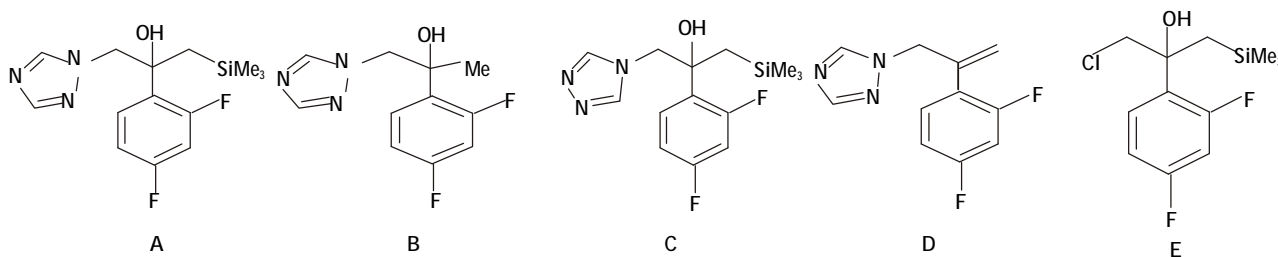


图2 化合物 A、B、C、D、E 的结构式

Fig. 2 Structural formula of the compound A, B, C, D and E

OH); 4.52(2H t CH₂); 6.80(1H n ArH); 7.20(1H n ArH); 7.52(1H n ArH); 8.04(1H d CH-N); 8.40(1H d CH-N)。

Ms 图谱中, M+H=240 m/z=239 产品的分子量为 315, 比产品少 76, 结合核磁共振图谱, 原来特征明显的 9 个 H 减少为 3 个 H, 且其值为正值, 而如果有硅烷基存在的条件下, 烷基上的 H 的化学位移应该是负值, 说明产品中的 Si 和 -Me 可能有丢失, 推测其可能为 SiMe₃ 转化为 Me, 且质量数也正好符合 m/z=239。推测各碎片归属见表 1。

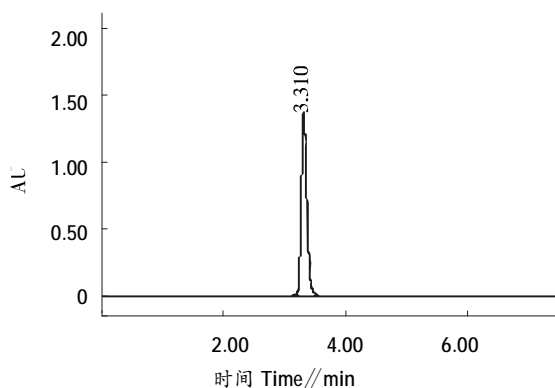


图3 杂质 B 色谱图(254 nm 检测)

Fig. 3 Chromatogram of the impurity B

表1 碎片归属

Table 1 Ascription of the fragments

m/z	结构 Structure	m/z	结构 Structure
221		127	
153		113	
133		88	

IR 数据中杂质在 3 547.0 cm⁻¹ 附近有 -OH 伸缩振动产生的很宽的特征吸收峰; 苯环上的 C-H 伸缩振动吸收发生在 3 165.3 cm⁻¹ 左右, C-H 面外弯曲振动吸收发生在 748.8 cm⁻¹ 左右, 苯环 C=C 骨架伸缩振动吸收发生在 1 630.4 cm⁻¹ 附近; 由于共轭增大了环碳与氮原子间的双键性, C=N 的伸缩振动发生在 2 252.9 cm⁻¹; 芳氟烃的 C-F 伸缩振动在 1 400~

1 100 区间有较强吸收峰。具体数据见表 2。

表2 杂质 B 的 IR 数据

Table 2 IR data of the impurity B

Position	Intensity	Position	Intensity
749	89.1	1 630	86.9
919	87.2	2 253	78.2
1 040	83.9	2 944	93.8
1 242	88.7	3 003	93.0
1 377	80.7	3 165	95.8
1 423	79.7	3 547	82.3

解析: ①苯环, γ -C-H 3 165.3 cm⁻¹; δ -C-H 748.8 cm⁻¹; λ c=C 1 630.4 cm⁻¹; ②叔醇, γ -OH 3 547.0 cm⁻¹; γ -C-O 1 040.0 cm⁻¹; ③-Me, γ -C-H 2 944.4 cm⁻¹; 3 002.7 cm⁻¹; ④多氟代烃, γ -C-F 1 377.3 cm⁻¹; ⑤氮杂环, γ -C=N 2 252.9 cm⁻¹。

IR 数据确证了杂质结构的推断是正确的。其结构式见图 2B。

2.2 杂质 C 的结构鉴定 杂质 C 色谱见图 4。该杂质为白色固体粉末, mp>200 °C(乙醇), 其光谱数据如下:

¹H-NMR(500MHz, CDCl₃) δ : -0.15(9H s Me₃); 1.65(2H CH₂); 3.65(1H s OH); 4.30(2H t CH₂); 6.78(1H n ArH); 6.90(1H n ArH); 7.51(1H n ArH); 8.64(2H s CH-N)。

在对其进行质谱研究时发现了一个重要现象, 其 MS 谱图中 m/z=315, 与产品的分子量完全相同, 且分子碎片也几乎相同, 故推测可能为产品的同分异构体。其红外图谱与产品的红外图谱官能团特征基本相同, 将该杂质的核磁共振数据与产品的核磁共振数据相比较发现, 该杂质只有三唑环上 H 的化学位移与产品相比有所偏差, 产品中三唑环上 2 个 H 的化学位移不同, 而该杂质三氮唑环上的 2 个氢化学位移相同, 推测该杂质三氮唑环上的 2 个 H 可能处于对称状态, 2 个 H 的化学环境相同, 从而导致化学位移相同, 故推测化合物 C 的分子结构如图 2C 所示。通过分析反应

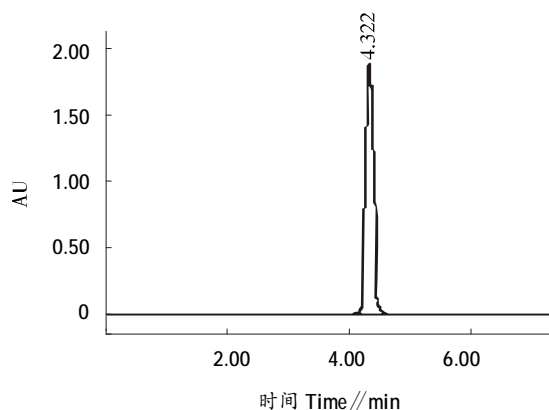


图4 杂质 C 色谱图(254 nm 检测)

Fig. 4 Chromatogram of the impurity C

过程发现:第 2 步反应原料三氮唑环在反应过程中,由于氮杂环上的 π 键共轭导致三氮环发生电子的转移而产生异构体,第 1 步反应的中间体与该异构化的三氮环连接就会产生 2 种不同的结构,从而导致异构体的产生,过程见图 5。后在实验室中通过改变第 2 步反应原料,合成出产品的该种异构体,证明确实和该杂质的液相色谱保留时间相一致,故确定该杂质为产品的异构体且结构如图 2 中的化合物 C。

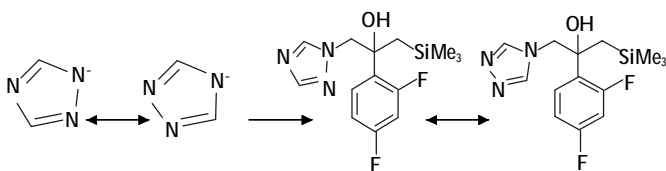


图 5 异构体产生过程

Fig. 5 Producing process of the isomer

2.3 杂质 D 的结构鉴定 杂质 D 色谱见图 6。该杂质为黄色块状固体, $mp > 200$ °C(乙醇),其光谱数据如下:

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 4.52 (2H t CH_2); 5.24 (1H s $=\text{CH}_2$); 5.36 (1H s $=\text{CH}_2$); 6.63 (1H n ArH); 6.69 (1H n ArH); 7.52 (1H n ArH); 8.05 (1H d CH-N); 8.34 (1H d CH-N)。

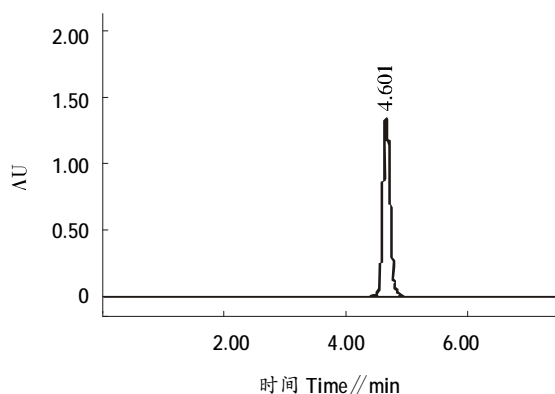


图 6 杂质 D 色谱图(254 nm 检测)

Fig. 6 Chromatogram of the impurity D

由核磁共振中的数据与杂质 B 的数据相比较推断,其结构可能为杂质 B 上的 $-\text{OH}$ 与 Me 上的一个 H 结合失去 1 分子水所形成的 $\text{C}=\text{C}$ 结构。

Ms 图谱中, $\text{M}+\text{H}=222 \text{ m/z}=221$,其质量数比产品的质量数 315 少 94,而比化合物 B 少 18,推测可能为化合物 B 脱掉 1 分子水的产物。

通过红外光谱验证,其与化合物 B 相比较,在 3 165 处 $-\text{OH}$ 的特有的钝峰消失,而其余部分与化合物 B 的红外图谱基本相同,更证实了化合物 D 为化合物 B 脱掉 1 分子水。

为了证实化合物 D 的结构,将化合物 B 在浓盐酸中加热进行破坏性试验,通过反应跟踪,将得到的产物做 HPLC,其保留时间与化合物 D 相符,更加证实了化合物 D 确为化合物 B 脱掉 1 分子水所形成的结构。其结构式如图 2D 所示。

2.4 杂质 E 的结构鉴定 杂质 E 色谱见图 7。该杂质为白色固体粉末, $mp > 200$ °C(乙醇),其液相色谱中保留时间与产品反应过程中的一种中间产物非常接近。取 1 μg 自备的中间体(面积归一化法测定含量为 99.6%)为标准品,加入到该农药粗品中,按“1.2.1”色谱条件进行试验,发现杂质 E

的百分含量明显增大(图 8),推断该杂质为反应过程中的中间体,其结构式见图 2E。

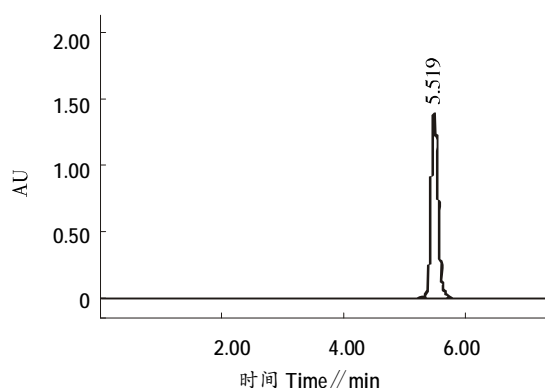


图 7 杂质 E 色谱图(254 nm 检测)

Fig. 7 Chromatogram of the impurity E

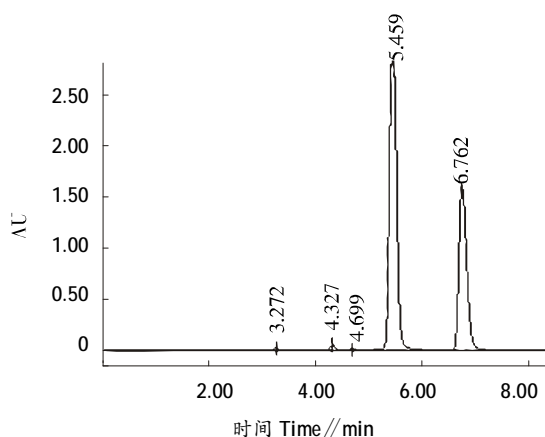


图 8 杂质 E 样品中添加中间体的色谱图(254 nm 检测)

Fig. 8 Chromatogram of the impurity E sample mixed with the inter-mediate production

3 讨论

通过对杂质结构的鉴定,结果表明:该三氮唑农药粗品组成中有中间体、异构体、副产物,以及在处理过程中引入的其他杂质。

中间体推测为第 1 步反应不完全引入;异构体推断由于第 2 步反应原料在反应过程中发生电子转移而导致结构变化,反应中间体在与其连接后也会产生 2 种不同的结构,从而导致异构体的产生;其余 2 种杂质则可能是在反应过程中由于反应条件的变化,如温度、酸碱性等不适当或处理过程不适当而产生。通过对该三氮唑类杀菌剂中杂质的分离和结构鉴定推断杂质产生的原因,在合成过程中就可以有针对性地改善相应的反应条件和步骤,从而达到降低杂质含量提高产品纯度的目的。

参考文献

- [1] 杜英娟.国外杀菌剂的发展近况[J].农药,1989,28(1):48.
- [2] 许良忠,李惠静,张书圣.含 1,2,4-三氮唑类杀菌剂的研究进展[J].青岛化工学院学报,2000(3):201-205.
- [3] ITOH H, YONEDA R, TOBITSUKA J, et al. Synthesis and systemic fungicidal activity of silicon-containing azole derivatives [J]. Chem Pharm Bull, 2000, 48(8):1148.
- [4] SANO S, SHIMODA S, HAMAMURA H, et al. Development of new agrochemicals[M]. Tokyo:CMC Co Ltd, 2000.
- [5] 化工部农药工业科技情报中心站. 国外农药品种手册(一)、(四)、(五)[M].北京:化学工业部农药科技情报中心站, 1980.