

◆ 创制与开发 ◆

化合物HBERC1684可溶粉剂的制备 及杀虫活性评价

张志刚¹, 王 仲², 张亚妮¹, 龙 同¹, 万中义¹, 王开梅¹, 方 伟^{1*}, 柯少勇^{1*}

(1. 国家生物农药工程技术研究中心, 湖北省生物农药工程研究中心, 湖北省农业科学院, 武汉 430064; 2. 武汉华夏理工学院生物与制药工程学院, 武汉 430223)

摘要: 为了提高化合物HBERC1684的生物利用度, 减少其实际用量, 通过制备HBERC1684的可溶粉剂, 并对其进行系统的活性评价及比较分析, 确定了其较佳的使用方法。通过试验筛选润湿分散剂等组合优化, 获得了HBERC1684的10%可溶粉剂的最佳制备方法。结果表明, 10%可溶粉剂能够显著增加其溶解性能, 有效提高其杀虫活性, 适合田间应用。

关键词: HBERC1684; 可溶粉剂; 制备优化; 蚜虫; 杀虫活性

中图分类号: TQ 450.1⁺1 **文献标志码:** A **doi:** 10.3969/j.issn.1671-5284.2020.03.003

Preparation and Insecticidal Evaluation of Soluble Powder of Compound HBERC1684

ZHANG Zhigang¹, WANG Zhong², ZHANG Yani¹, LONG Tong¹, WAN Zhongyi¹, WANG Kaimei¹, FANG Wei^{1*}, KE Shaoyong^{1*}

(1. National Biopesticide Engineering Research Centre, Hubei Biopesticide Engineering Research Centre, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430064, China; 2. College of Biological and Pharmaceutical Engineering, Wuhan Huaxia University of Technology, Wuhan 430223, China)

Abstract: In order to improve the bioavailability of compound HBERC1684, and reduce its actual usage, we optimized the possible formulation for HBERC1684, and investigated their systematic bioactivity. The results indicate that the resulting preparation of 10% soluble powder for HBERC1684 can significantly increase its solubility, and enhance its insecticidal activity.

Key words: HBERC1684; soluble powder; preparation and optimization; aphid; insecticidal activity

蚜虫是世界性的农业害虫, 它寄主范围广、繁殖快、危害严重, 常聚集在植株的芽、花蕾、嫩叶或嫩枝上, 以尖利的口器刺吸植物汁液。蚜虫危害轻者引起植物营养恶化、生长缓慢、生长畸形、落叶、萎蔫, 严重危害时导致植物枯死, 同时还传播多种病毒病。蚜虫的防治历来是全世界农林业虫害防治的重要内容^[1], 因此开发高效、低毒、广谱的新型化学杀蚜剂, 也是当务之急^[2-4]。

化学农药作为害虫综合治理过程的重要手段,

在农业生产中起着不可替代的作用。此外, 化学农药还被广泛用于林业、水产、畜牧业、卫生害虫及传染病的防控等领域。随着国家环保力度的加强, 在害虫综合治理过程中更倾向于采用生物防治方法, 但在今后相当长的一个时期内化学防治仍是害虫防控的重要手段^[5-7]。农业的可持续发展、环境保护、抗性治理和知识产权保护等均从不同的方面要求不断加强新农药的创新研究, 开发具有自主知识产权的高效和环境友好型“绿色生态农药”。鉴于此,

收稿日期: 2019-08-12

基金项目: 湖北省农业科学院领军人才计划及湖北省农业科技创新资金资助项目 (2019-620-000-001-27)

作者简介: 张志刚 (1971—), 男, 湖北天门人, 大专, 副研究员, 从事生物活性评价及筛选体系建立。E-mail: zhigang.zhang@nberc.com

共同第一作者: 王仲 (1982—), 女, 湖北武汉人, 硕士, 讲师, 从事药物制剂研究。E-mail: wangzhong1227@163.com

通信作者: 柯少勇 (1978—), 男, 湖北谷城人, 博士, 副研究员, 从事天然产物资源导向的农用先导发现。E-mail: shaoyong.ke@nberc.com

共同通信作者: 方伟 (1983—), 男, 湖北石首人, 博士, 副研究员, 从事天然产物分离。E-mail: wei.fang@nberc.com

为了寻求适合用于害虫综合治理的绿色生态型农用化学品,笔者通过化学生物信息学等分子合理设计方法,获得了含双酰胺单元的杂环亚胺衍生物^[9],部分化合物具有显著的杀蚜虫活性。为了进一步提高该类化合物的生物利用度,降低其实际用量,笔者对高活性化合物HBERC1684进行了相应的剂型探索,并对其进行了系统的活性评价及比较,确定其较佳的应用方法,以期该类化合物的开发提供支撑。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

液相色谱分析采用Waters ACQUITY UPLC[®] H-CLASS PDA (Waters[®])及Waters 2695HPLC分析仪(Waters[®], Milford, MA, USA);所用试剂甲醇、醋酸、三氟乙酸、磷酸、盐酸等均为市售分析纯,上海国药集团;化合物HBERC1684的制备参考文献[8]进行;供试害虫为实验室常规饲养的东方豆蚜,将蚜虫置于温度为25℃、相对湿度为40%~60%的养虫室饲养,测试前一天,将蚜虫转接到1.5 cm高的新豆苗上,每颗豆苗上的接虫量约30~40头。

1.2 目标化合物盐的制备

将5 mmol HBERC1684溶于30 mL无水甲醇中,冰水浴条件下缓慢滴加2 当量的酸(醋酸、三氟乙酸、磷酸、盐酸),然后低温搅拌约10~15 min,撤去冰浴,约30 min后,体系析出大量白色固体,继续搅拌约2~4 h,减压抽滤,真空干燥得产物。

1.3 目标化合物可溶粉剂制备

将5 g原药在70~80℃的条件下溶解于约少量的甲醇溶液中,直至完全溶解为黄色透明溶液。将45 g聚乙二醇6000加入蒸发皿中,在水浴条件下加热至完全熔化为无色透明液体。将原药溶解完全的甲醇溶液趁热加入聚乙二醇液体中,并迅速搅拌均匀。在水浴上继续加热至混合物体积不再改变为止,立即放入冰过的白瓷盘中均匀平铺,并迅速放

入冰箱冷冻保存24 h。取出后放入30℃恒温烘箱中干燥,研磨,在60目下过筛得到白色粉末状物质。

1.4 可溶粉剂含量测定

称取一定量的样品,用少量甲醇溶解后,定容到10 mL容量瓶。在295 nm波长下测定吸光度,以相同质量的空白制剂作为空白对照。另取一定量对照药品,用甲醇溶解后,定容到10 mL容量瓶,在295 nm波长下测定吸光度。按式(1)计算样品质量浓度。

$$C_{\text{样品}} = \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标样}} - A_{\text{甲醇}}} \cdot C_{\text{标样}} \quad (1)$$

式中: $A_{\text{样品}}$ 、 $A_{\text{空白}}$ 、 $A_{\text{标样}}$ 、 $A_{\text{甲醇}}$ 分别为样品、空白对照、标样及甲醇的吸光度值; $C_{\text{样品}}$ 为样品的质量浓度,mg/mL。

1.5 可溶粉剂的性能测试

参考剂型性能测试标准方法对所制备的可溶粉剂进行了相关性能的测试,主要包括细度、全溶解时间及热贮稳定性等。

1.5.1 细度测定

采用干筛法,详细操作步骤按照GB/T 16150—1995《农药粉剂、可湿性粉的细度测定方法》进行。

1.5.2 全溶解时间测定

称取5.0 g样品于1 000 mL烧杯中,放置在25±1℃恒温槽中,加入25℃蒸馏水500 mL(相当于稀释100倍),立即打开秒表,同时开启搅拌器,以60~70 r/min的速度搅拌,分别于2 min、3 min、4 min、……吸取上层液10 mL,至分析溶液中有效成分的含量不再增加,所用时长即为全溶解时间。

1.5.3 热贮稳定性测定

参照GB/T 19136—2003《热贮稳定性测定方法》。将20 g试样放入烧杯,不加任何压力,使其铺成等厚度平滑均匀层。将圆盘压在试样上面,置烧杯于烘箱中,在恒温箱(54±2℃)中放置14 d。取出烧杯,拿出圆盘,放入干燥器中,使试样冷却至室温。于24 h之内检测有效成分含量。根据贮存前含量和贮存后含量求出分解率,有效成分分解率按式(2)计算。

$$\text{有效成分分解率} = \frac{\text{有效成分原始含量} - \text{热贮后有效成分含量}}{\text{有效成分原始含量}} \times 100\% \quad (2)$$

1.6 活性评价

参照NY/T 1154.14—2008《农药室内生物测定试验准则杀虫剂第14部分:浸叶法》^[9-10],对目标化合物HBERC1684及其剂型进行了杀虫活性的系统评价。

2 结果与分析

2.1 HBERC1684盐的制备及液相色谱分析

为了增加化合物HBERC1684的溶解性,提高其

生物利用度,结合其结构特征,考虑制备其相应的盐。选择醋酸、三氟乙酸、磷酸、盐酸等进行了成盐反应探索。从图1可以发现,在三氟乙酸和盐酸等强酸的作用下,化合物很快水解,保留时间分别为1.17、1.18 min;而在醋酸及磷酸条件下,化合物能够稳定存在,保留时间分别为1.82、1.83 min。

2.2 HBERC1684可溶粉剂的制备及含量测定

化合物HBERC1684为脂溶性化合物,可溶于甲

醇,微溶于乙醇、乙酸乙酯、氯仿、石油醚等,难溶于水。由于其在水中溶解度差,严重影响其在生产实践中的应用,很容易导致药效不稳定。在化合物的剂型优化过程中,采用常规固体分散剂如环糊精、聚乙二醇4000及聚乙二醇6000等进行了试验探索,但结果表明环糊精和聚乙二醇4000对化合物HBERC1684的分散效果很差。因此,采用聚乙二醇6000为分散剂,经过多次配方和制备过程优化,成功研制化合物HBERC1684的可溶粉剂(10%含量),该制剂在质量浓度为1 g/L时,溶液澄清透明,放置长时间无析出,表明该制剂大大提高化合物在水中溶解度,为进一步应用研究打下良好基础。

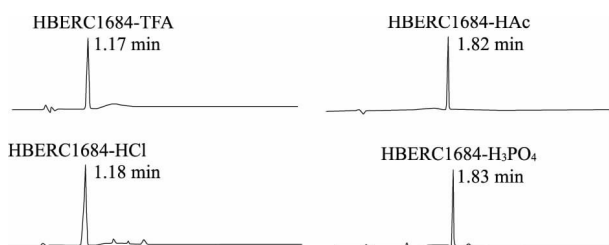


图1 化合物HBERC1684 4种盐的超高效液相色谱分析

采用紫外分光光度法对该制剂进行了含量的测定。通过紫外扫描图谱选取295 nm作为含量测定波长(图2)。配制一系列不同浓度的HBERC1684溶液,测定紫外吸收度,发现在1~6 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度范围内,浓度与吸光度呈良好的线性关系,其线性回归线方程为 $y=0.1313x+0.0697$, $R^2=0.9995$,满足含量测定要求,结果见图3。

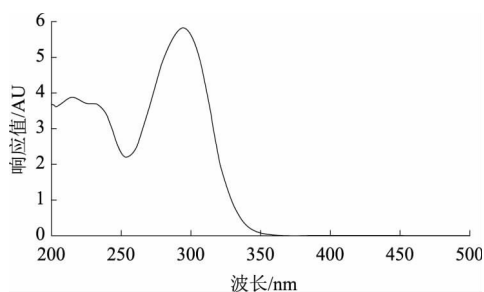


图2 化合物HBERC1684的紫外光谱分析

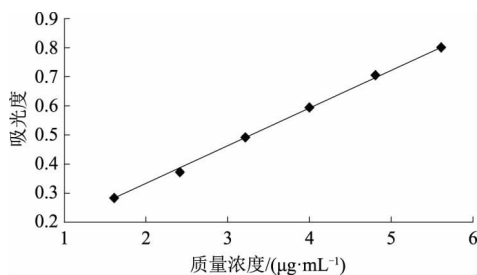


图3 化合物HBERC1684线性关系图

平行称取3份样品,用所述方法测定紫外吸收度并计算含量,所制备的可溶粉剂的实际含量为8.96%,标准偏差为3.5%,表明所制备的可湿性粉剂的含量稳定,均一性较好。另外制剂回收率为89.6%,可能是在制备过程中样品残留导致。

2.3 HBERC1684可溶粉剂的性能测试

在上述制备的剂型基础上,对所制备的可溶粉剂进行了细度、全溶解时间及热贮稳定性等基本性能测试。结果表明,采用干筛法进行HBERC1684可溶粉剂的细度测定,实测值为100%通过80目;全溶解时间测试表明所制备的粉剂全溶解时间为3 min;热贮稳定性测试表明,所制备的剂型产品在 $54 \pm 2^\circ\text{C}$ 温度下贮存14 d后的分解率为3%~8%,均不超过10%,根据FAO标准规定,在 $54 \pm 2^\circ\text{C}$ 温度下贮存14 d后,有效成分的含量下降率小于10%,一般能保证产品生产后两年期间的热贮稳定性,因此,该制剂符合可溶粉剂热贮稳定性要求。

2.4 杀虫活性分析

化合物HBERC1684的内吸活性较差,且溶解性较差,为了达到提高化合物内吸活性及增加其溶解性的目的,将化合物分别制备成相应的磷酸盐(HBERC1684- H_3PO_4)及醋酸盐(HBERC1684-HAc)。母体化合物及其相应盐的杀虫活性测试结果见表1。针对东方豆蚜的测试结果表明,化合物HBERC1684具有显著的杀蚜虫活性,与对照药物吡虫啉的活性相当;从表1也可知,HBERC1684的磷酸盐活性与母体化合物HBERC168相当,而HBERC1684的醋酸盐的活性优于母体化合物,可能由于磷酸盐分子量相对较大,导致其同等摩尔质量的化合物量较大,溶解度相对低于其醋酸盐,因而活性略低于醋酸盐。

化合物HBERC1684为脂溶性化合物,由于其在水中溶解度差,严重影响其在生产实践中的应用。经过多次剂型优化,成功研制化合物HBERC1684的可溶粉剂(含量10%)。为了探讨该剂型的进一步应用,我们测试了其相关的杀虫活性,测试结果见表2。

从表2可见,10% HBERC1684可溶粉剂呈现出明显优于原药及对照药物吡虫啉的杀虫活性,该可溶粉剂在0.3125 $\mu\text{g/mL}$ 的较低浓度下,仍具有较好的杀虫活性(50%~70%)。在10、5、2.5、1.25、0.625 $\mu\text{g/mL}$ 的较高测试浓度下,豆芽生长状态明显较好,而在较低浓度下,由于蚜虫的危害导致豆芽生长较矮。

通过上述活性数据分析可知,化合物的剂型对于化合物活性的影响较大,剂型的不断优化改进有望提高药效。

表 1 化合物 HBERC1684 及其磷酸盐、醋酸盐和吡虫啉的杀蚜虫活性

样品	重复 次数	不同质量浓度(μg/mL)时的死亡率 ^a											
		2.00	1.00	0.50	0.25	0.125	0.063	0.031	0.016	0.008	0.004	0.002	0.001
吡虫啉	1	9	9	9	7	5	3	3	0	0	0	0	0
	2	9	9	9	7	5	3	0	0	0	0	0	0
HBERC1684磷酸盐	1	9	9	9	7	5	3	0	0	0	0	0	0
	2	9	9	9	5	5	3	0	0	0	0	0	0
HBERC1684醋酸盐	1	9	9	9	7	5	5	3	0	0	0	0	0
	2	9	9	9	5	5	5	3	0	0	0	0	0
HBERC1684	1	9	9	7	7	5	3	0	0	0	0	0	0
	2	9	9	7	5	5	3	0	0	0	0	0	0
空白对照	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

^a表示死亡率分级,0(死亡率<30%);3(30%≤死亡率<50%);5(50%<死亡率≤70%);7(70%<死亡率≤90%);9(90%<死亡率≤100%),下表同。

表 2 化合物 HBERC1684(95%原药)、HBERC1684(10%可溶粉剂)及吡虫啉的杀蚜虫活性

样品	重复 次数	不同质量浓度(μg/mL)时的死亡率 ^a											
		10.0	5.0	2.5	1.25	0.625	0.312 5	0.156 3	0.078 1	0.039 1	0.019 5	0.009 8	0.004 9
HBERC1684 (95%原药)	1	9	9	9	7	5	0	0	0	0	0	0	0
	2	9	9	9	7	7	0	0	0	0	0	0	0
HBERC1684 (10%可溶粉剂)	1	9	9	9	9	7	5	0	0	0	0	0	0
	2	9	9	9	9	7	5	0	0	0	0	0	0
吡虫啉	1	9	9	9	9	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	9	9	9	9	0	0	0	0	0	0	0	0
空白对照	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

3 小结及讨论

本文以具有自主知识产权的化合物HBERC1684为基础,进行了化合物的剂型优化及杀虫活性探讨。通过试验研究,成功制备化合物HBERC1684的10%可溶粉剂,活性测试结果表明,该剂型能够明显提高药剂的生物活性,从而降低实际用量,并且其杀虫活性要明显优于对照药剂吡虫啉,为该化合物的进一步应用开发研究打下了良好基础。

蚜虫是当前最常见的农林业害虫之一,每年对多种农作物、蔬菜、果树及园林植物危害严重,针对此类害虫的防治仍然离不开化学防治。而新化合物HBERC1684能够在较低剂量下杀灭蚜虫,具有较好的应用前景,可作为有效成分应用于农林业害虫的综合防控。

参考文献

[1] CZERNIEWICZ P, CHRZANOW G, SPRAWKA I, et al. Aphicidal activity of selected asteraceae essential oils and their effect on enzyme activities of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) [J]. *Pestic Biochem Phys*, 2018, 145: 84-92.

[2] RAHMANI S, BANDANI A R. Pirimicarb, an aphid selective insecticide, adversely affects demographic parameters of the aphid preda-

tor *Hippodamia variegata* (Goeze) (Coleoptera: Coccinellidae)[J]. *J Plant Prot Res*, 2016, 56(4): 353-363.

[3] 张新, 赵莉, 陈娟. 八种杀虫剂对桃蚜的毒力测定[J]. *北方果树*, 2011(2): 10-11.

[4] ALY M R EL-S, EL-MAGEED A E M A, EL KAFAFY A K M A, et al. Synthesis and anti-aphid aphid *gossypii* glover activity of some new quinoline derivatives[J]. *Plant Prot Res*, 2011, 51(2): 114-120.

[5] QIAN X, LEE P W, CAO S. China: forward to the green pesticides via a basic research program[J]. *Agric Food Chem*, 2010, 58(5): 2613-2623.

[6] GENTZ M C, MURDOCH G, KING G F. Tandem use of selective insecticides and natural enemies for effective, reduced-risk pest management[J]. *Biol Control*, 2010, 52(3): 208-215.

[7] WEINTRAUB P G. Integrated control of pests in tropical and sub-tropical sweet pepper production[J]. *Pest Manag Sci*, 2007, 63(8): 753-760.

[8] KE S, YANG Z, ZHANG Z, et al. Preparation of bisamide-containing heterocyclic imine derivatives useful as pesticides: 201610079057.4 [P]. 2018-9-18.

[9] LIU J, ZHU B, PEI D, et al. Synthesis and insecticidal activity of novel heptafluoroisopropyl substituted 2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-acetamide derivatives [J]. *Chin J Pestic Sci*, 2019, 21(1): 12-18.

[10] YANG D, WAN C, XIAO Y, et al. Design, synthesis, and insecticidal activity of novel 1-alkoxy-2-nitroguanidines[J]. *RSC Adv*, 2018, 8 (4): 1838-1845.

(责任编辑:石凌波)