

## 叶酸中蝶呤类杂质的工艺研究

## Study on trexate impurities in folic acid

马宁宁 刘晓莲 杨藏军 王俊凯 韩 啸 (河北冀衡药业股份有限公司, 河北 衡水 053400)

Ma Ning ning Liu Xiao lian Yang Cang jun Wang Jun kai Han Xiao

(Hebei Jiheng Pharmaceutical Co., Ltd, hebei hengshui 053400)

**摘要:** 本课题以 2,5,6-三氨基-4-羟基嘧啶硫酸盐, 三氯丙酮为原料, 合成蝶呤类杂质, 研究了合成过程中物料摩尔比、反应温度、反应时间、反应 pH 对蝶呤类杂质的影响。实验结果表明, 2,5,6-三氨基-4-羟基嘧啶硫酸盐与三氯丙酮物料摩尔比为 1:2, 反应温度为 40~45℃、反应时间为 5~6h, 反应 pH 为 3.0~3.5, 合成的蝶呤类杂质含量较高, 经液相色谱分析, 纯度可达 95.5%。为叶酸生产过程中避免此杂质的生成提供了理论依据。

**关键词:** 叶酸; 蝶呤

**Abstract:** Methotrexate impurities were synthesized from 2,5,6-triamino-4-hydroxypyrimidine sulfate and trichloroacetone. The effects of mole ratio, reaction temperature, reaction time and reaction Ph on the synthesis of methotrexate impurities were studied. The results showed that the molar ratio of 2,5,6-triamino-4-hydroxypyrimidine sulfate to trichloroacetone was 1:2, the reaction temperature was 40~45℃, the reaction time was 5~6h, the reaction Ph was 3.0~3.5, the content of pterine impurities was high, the purity was 95.5% by HPLC. It provides a theoretical basis for avoiding the formation of this impurity in the production of folic acid.

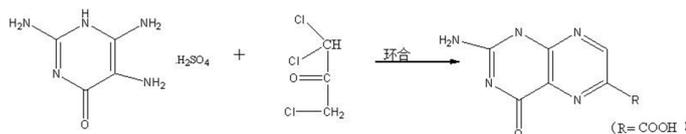
**Key words:** Folic acid; pterin

## 1 引言

叶酸 (folic acid) 是一种广泛存在于绿色蔬菜水果中的 B 族维生素。叶酸是多数生物体内碳单位的供体, 是氨基酸、核酸及泛酸等生物合成所必需的物质。人体特别是孕妇体内缺乏叶酸则会引发严重的疾病, 例如婴儿的巨幼细胞性贫血、神经管缺陷、心血管疾病等症。动物体内缺少叶酸时, 则发生食欲减退, 生长受阻, 羽毛发育不良等。叶酸以在植物绿叶中含量丰富故名。在动物组织中以肝脏含叶酸最丰富。起初系从肝脏中提取, 现在多采用人工合成法生产。叶酸成品中蝶呤类杂质作为单个杂质含量较高, 为保证叶酸的质量, 必须对蝶呤类杂质的合成工艺条件给予充分的掌握, 以避免叶酸在生产过程该杂质的引入。

## 2 实验部分

### 2.1 反应方程式



### 2.2 实验仪器与药品

仪器: 高效液相色谱 U3000-2, (赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司)、集热式恒温加热磁力搅拌器 (巩义市科瑞仪器有限公司)。

试剂: 2,5,6-三氨基-4-羟基嘧啶硫酸盐 (河北冀衡药业股份有限公司)、三氯丙酮 (河北冀衡药业股份

有限公司), 碳酸钠 (河北冀衡药业股份有限公司), 以上试剂均为分析纯。

### 2.3 实验步骤

将水 1000mL、焦亚硫酸钠 10g 加入到 2000mL 四口瓶中, 加热到 43℃, 加入氨二 20g, 搅拌 15min, 加入三氯丙酮水提液 500mL。加完后搅拌 10min, 用蠕动泵将饱和碳酸钠溶液滴加到四口瓶中, 保持溶液 pH 不超过 3~3.5, 反应约 5~6h。抽滤, 得蝶呤类杂质杂质。

## 3 结果与讨论

### 3.1 影响反应的因素

在合成叶酸过程中, 过量的 2,5,6-三氨基-4-羟基嘧啶硫酸盐与三氯丙酮发生环合反应生成蝶呤类杂质, 经过多次实验与比较, 对 2,5,6-三氨基-4-羟基嘧啶硫酸盐与三氯丙酮物料摩尔比为, 反应温度、反应时间为, 反应 pH, 进行了分析和讨论。

#### 3.1.1 原料摩尔比

表 1 原料摩尔比对纯度的影响

Tab.1 Effect of the raw material molar ratio on the purity

序号	2,5,6-三氨基-4-羟基嘧啶硫酸盐与三氯丙酮摩尔比	纯度
1	1:1.5	79.5%
2	1:1.8	83.6%
3	1:2.0	93.5%
4	1:2.5	87.7%

设定反应温度为 42℃, 反应时间为 5h, 反应 pH3.0~3.5, 考察 2,5,6-三氨基-4-羟基嘧啶硫酸盐与三氯丙

酮不同摩尔比对产品纯度的影响, 结果见表 1。

该环合反应理论上原料摩尔比为 1:1, 但为了 2,5,6-三氨基-4-羟基嘧啶硫酸盐完全反应, 提高收率, 故增加三氯丙酮的量, 但三氯丙酮过量也不宜太多, 否则副产物增加, 产品纯度下降。因此, 原料最佳摩尔比为 1:2.0。

### 3.1.2 反应温度的影响

设定原料摩尔比为 1:2.0, 反应时间为 5h, 反应 pH3.0~3.5, 考察反应温度对产品纯度的影响, 结果见表 2。

表 2 反应温度对纯度的影响

Tab.2 Effects of the reaction temperature on the purity

序号	反应温度 (°C)	纯度
1	30	87.9%
2	35	90.2%
3	40	94.2%
4	45	92.3%

由表 2 可以看出, 反应温度较低时, 反应物活性较低, 反应不完全, 反应温度较高时, 导致副反应增多, 收率下降。从成本等方面综合考量, 确定适宜的反应温度为 40°C。

### 3.1.3 反应时间的影响

设定原料摩尔比为 1:2.0, 反应温度为 40°C, 反应 pH3.0~3.5, 考察反应时间对产品纯度的影响, 结果见表 3。

表 3 反应时间对纯度的影响

Tab.3 Effects of refining time on the purity

序号	反应时间 (h)	蝶呤含量
1	4	90.2%
2	5	95.5%
3	6	94.8%
4	7	93.5%

由表 3 可以看出, 反应时间较短时, 反应不完全, 产品收率及原料转化率低, 适当延长反应时间, 可提高收率, 从降低反应成本分析, 适宜的反应时间为 5h。

### 3.1.4 反应 pH 的影响

设定原料摩尔比为 1:2.0, 反应温度为 40°C, 反应时间 5h, 考察反应 pH 对产品纯度的影响, 结果见表 4。

表 4 反应 pH 对纯度的影响

Tab.4 Effects of pH on the purity

序号	反应 pH	蝶呤含量
1	2.0	75.6%
2	3.0	94.6%
3	3.5	94.8%
4	4.0	80.3%

由表 4 可以看出, 反应溶液的 pH 对目标产物的影响较大, pH 较低时, 蝶呤类杂质不稳定, 易分解, 造成纯度较低, pH 较高时, 三氯丙酮在碱性环境中不稳定, 也会造成蝶呤类杂质的纯度较低, 所以, 较为适宜的 pH 范围为 3.0~3.5。

## 3.2 产品性质表征

产品高效液相色谱测定。

色谱条件: 检测器: 280Nm、色谱柱: 4.0mm\*25cm\*5 μm (C<sub>8</sub>)、柱温: 35°C、流速: 0.6mL/min、进样体积: 5ul、流动相: 甲醇: 磷酸盐缓冲液 (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 11.16g/L, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 5.50g/L) =12:88, 检测结果如图 1:

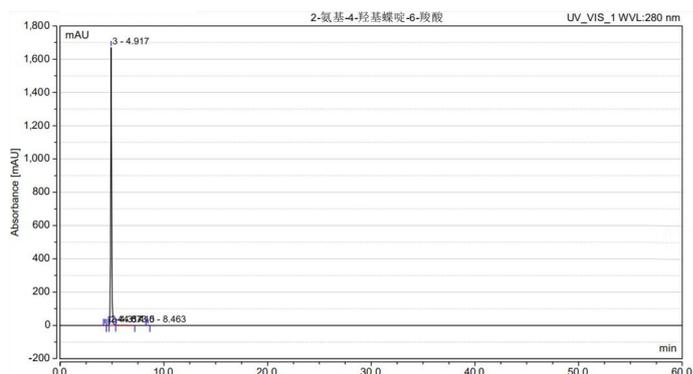


图 1 蝶呤类杂质高效液相色谱图

Fig.1 HPLC spectrum of product

## 4 结论

以 2,5,6-三氨基-4-羟基嘧啶硫酸盐, 三氯丙酮为原料, 合成蝶呤类杂质, 优化工艺条件为: 2,5,6-三氨基-4-羟基嘧啶硫酸盐与三氯丙酮物料摩尔比为 1:2.0, 反应温度为 40~45°C、反应时间为 5~6h, 反应 pH 为 3.0~3.5, 蝶呤类杂质的纯度可达 95.5%。为叶酸生产过程中蝶呤类杂质杂质的去除提供了理论依据。

### 参考文献:

- [1] 贾芳. 叶酸合成新方法的探究 [D]. 河北: 河北科技大学, 2017.
- [2] 梁雪松. 叶酸生产工艺的优化 [D]. 河北: 河北科技大学, 2014.
- [3] 侯春燕. 叶酸结晶基础数据测定与结晶过程研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2010.
- [4] 温高举. 叶酸的合成工艺研究 [D]. 江苏: 东南大学, 2017.
- [5] 柴多里, 马云峰. 叶酸的制备及市场前景 [J]. 化工科技市场, 2001(12):19-20.
- [6] 郑连义, 康怀萍, 刘红梅. 叶酸的合成 [J]. 中国新药杂志, 2001,10(12):921-922.
- [7] 阚静, 李莉, 许激扬. 叶酸的生物合成及其代谢工程研究进展 [J]. 中国生化药物杂志, 2009(04):284-286.
- [8] 杨沙, 林道政, 王全亮, 等. 叶酸分散片的制备工艺研究 [J]. 文摘版: 医药卫生, 2015(04):119-119.
- [9] 吕学松, 辛纪衡, 刘晓莲, 等. 叶酸合成新方法研究 [J]. 煤炭与化工, 2017(05):75-77.
- [10] 王维. 叶酸的绿色合成工艺研究 [D]. 南京: 东南大学, 2016.

### 作者简介:

马宁宁 (1986-), 女, 硕士, 工作单位: 河北冀衡药业股份有限公司, 研究员。

本文系河北省省级科技计划资助, 项目名称: 河北省对氨基苯酚衍生物与叶酸药物技术创新中心, 项目编号: 199676234H。