

海群生中杂质三乙二胺的发现

姜心如 刘道丽*

Investigation of Triethylenediamine in Hetrazan

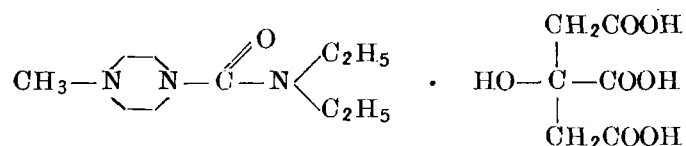
Jiang Xinru Liu Daoli

提 要

本文就海群生熔点偏低、含量偏高和干燥失重偏高以及用非水滴定法测定含量时加醋酐放置过程中发红等问题进行了研究。发现造成上述现象的主要原因是由原料哌嗪带来的杂质三乙二胺所引起的。

为保证海群生的质量,本文拟定了控制海群生中三乙二胺限量的方法,并提出了解决原料哌嗪质量的建议。

海群生是治疗血丝虫病(俗称橡皮腿)的一种化学合成药物。其结构式为:



1-甲基-4-二乙氨基甲酰基哌嗪枸橼酸盐。

英国药典^[1]、美国药典^[2]、日本药局方^[3]以及我国药典^[4]均采用非水溶液滴定法测定海群生的含量。我国药典规定含量测定中在加溶剂冰醋酸以前需加1ml 醋酐,在室温放置15~20分钟。在放置过程中常常发现样品液会出现黄、橙黄、红、大红甚至紫红等各种不一的颜色。当出现这些现象时,测得的含量结果偏高、熔点偏低、干燥失重偏高等,说明海群生质量不纯,有影响质量的杂质存在。南京制药厂海群生生产量较大,如遇上述情况,即需将产品返工进行重结晶,损失大,麻烦多。为了寻找影响海群生质量的原因所在,我组与南京制药厂检验科共同协作,对海群生产品中的杂质进行了初步的探索。

实 验 部 分

(一) 海群生中杂质的分离:

* 原在南京制药厂检验科工作,现在南京市中心血库工作。

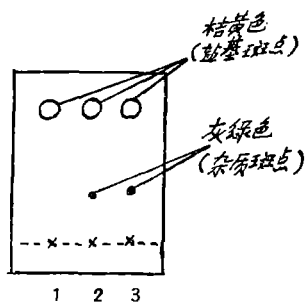
薄层板：250目以下的硅胶粉加1%羧甲基纤维素钠做成0.2~0.3mm厚的薄层板，于110℃活化1小时。

展开剂：苯-乙醇-氨水（6:7:2）

显色剂（改进生物碱试剂）：取KI 8g溶于20ml水，加次硝酸铋0.85g、醋酸10ml，加水至40ml；另取KI 12g，溶于10ml水，加I₂ 0.8g，加水到20ml，将两液混合（2:1）即得。

样品液的制备：精密称取海群生样品2g，置10ml量瓶中，加蒸馏水适量溶解后，稀释至刻度，摇匀即得。

测定法：取上述薄板在距底边2cm处画一起始线，在此线上每相距1~1.5cm处分别用微量注射器点注不同批号的样品液各10μl，于展开剂中展开至距前沿1~2cm处，取出干燥之，喷以显色剂，即得。所得层析图谱如下：



说明：1，2，3分别为不同批号的样品：

1—为加醋酐不发红者

2—为加醋酐发红色较浅者

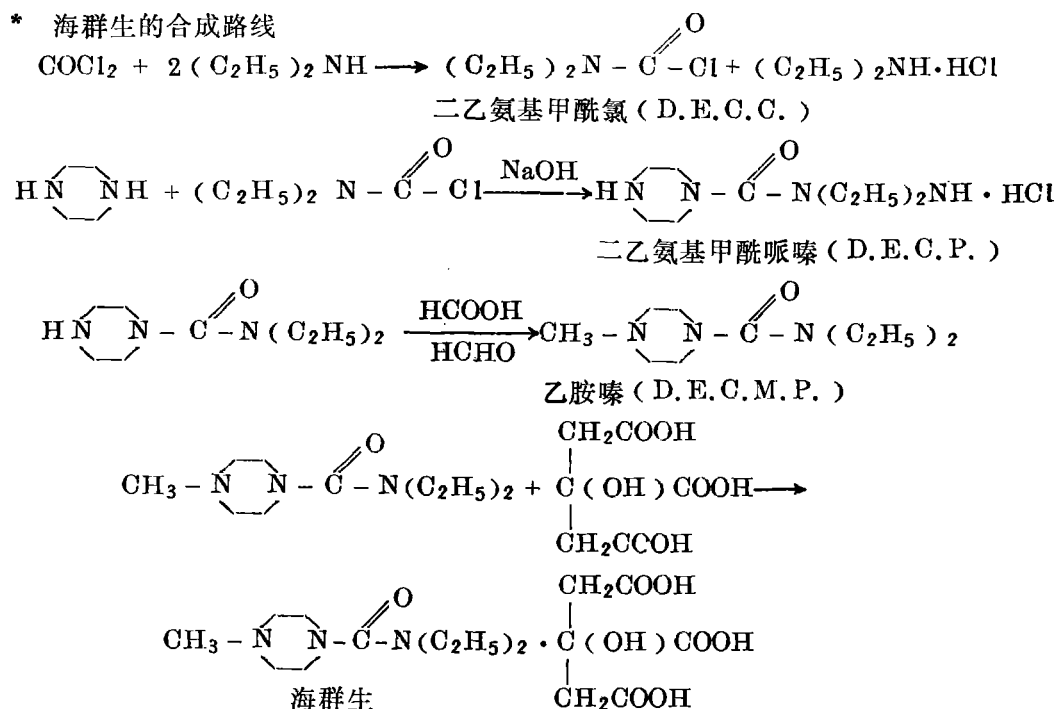
3—为加醋酐发红色较深者

由图可以看出，海群生中所含的杂质其R_f值较盐基斑点的R_f值为小，极性较盐基大，在图谱上所显的颜色也与盐基斑点所显的颜色有明显差别。

（二）海群生中杂质的证实：

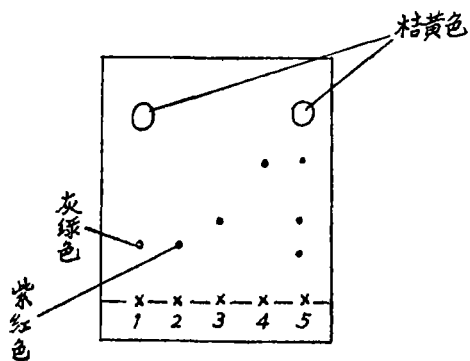
1. 海群生中杂质的来源不外乎由未作用的原料或副反应而来*。经分析可能为如下

* 海群生的合成路线



一些物质：哌嗪 ($\text{H}-\text{N}-\text{N}-\text{H}$)，一甲基哌嗪 ($\text{CH}_3-\text{N}-\text{N}-\text{H}$)，二甲基哌嗪 ($\text{CH}_3-\text{N}-\text{N}-\text{CH}_3$)，D.E.C.P. ($\text{H}-\text{N}-\text{N}-\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$)。再根据杂质在层析图谱上的

R_f 值来看，其极性较小，分子量也较小。以上述纯物质用同样方法与含杂质的海群生样品进行对照，结果如下：



说明：1 - 含有杂质的海群生样品

2 - 一甲基哌嗪

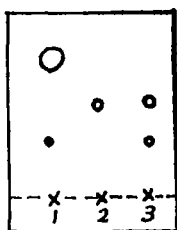
3 - 二甲基哌嗪

4 - D.E.C.P.

5 - 一甲、二甲、D.E.C.P. 和含有杂质的海群生的混合物

由图上出现的斑点位置可以看出，杂质的 R_f 值和一甲基哌嗪的 R_f 值相同，但颜色却明显不同，杂质为灰绿色，一甲基哌嗪为紫红色。一甲、二甲、D.E.C.P. 和含有杂质的海群生混合物含有五种成份，但只出现四个斑点，说明杂质与一甲基哌嗪在此条件下不能分开。但可以认为海群生中含有的杂质不是一甲基哌嗪，只是在这一实验条件下其层析行为与一甲基哌嗪相似。

2. 进行小量合成并从每一合成单元中取样，仍以同样方法进行层析分离，发现在所取的样品中它们的层析图谱上均含有与海群生中杂质 R_f 值相同、颜色相同的斑点。说明该杂质一开始就进入了合成反应中，可能由原料哌嗪而来。实验证明纯哌嗪的 R_f 值小于杂质的 R_f 值，而生产原料哌嗪中确含有大量的杂质斑点。图谱如下：



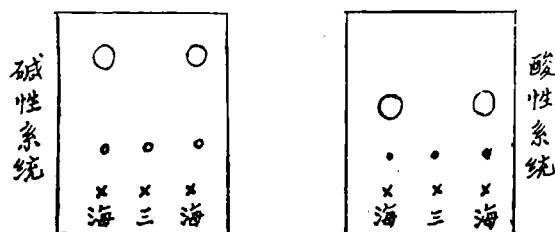
说明：1 - 含有杂质的海群生样品

2 - 纯哌嗪

3 - 生产用原料哌嗪

3. 分析哌嗪合成的正付反应*：哌嗪系经醇胺于高温下环合而得。环合过程中除生成哌嗪外,可能有吗啉($\text{H} \begin{array}{c} \diagup \text{N} \diagdown \\ \diagdown \text{O} \diagup \end{array}$)和三乙二胺($\text{N} \begin{array}{c} \diagup \text{N} \diagdown \\ \diagdown \text{N} \diagup \end{array}$)副产物生成。将上述物质的纯品与含有杂质的海群生样品进行层析行为的比较,结果发现三乙二胺的 R_f 值及颜色与样品中杂质斑点的 R_f 值和颜色是相同的;吗啉极性小, R_f 值较三乙二胺为大,斑点显红色。

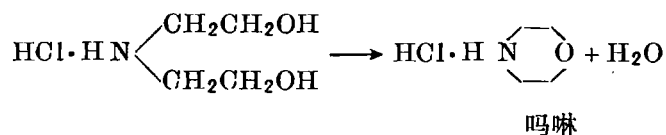
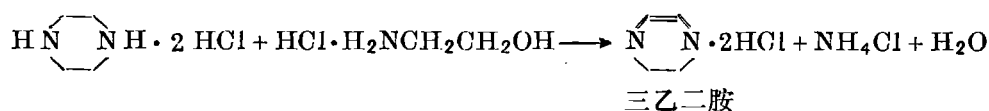
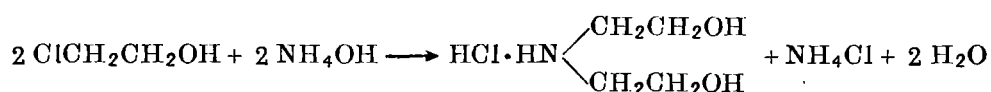
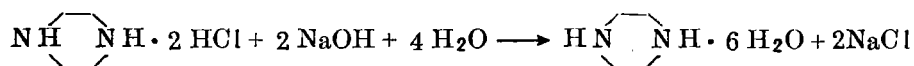
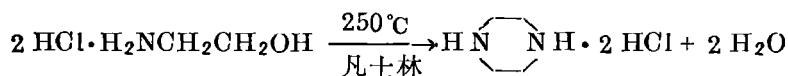
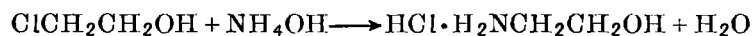
4. 三乙二胺的确证: 利用薄层层析方法确证某一种物质时,仅用一种展开系统是不够的。因为有些结构相似的物质往往在一种展开系统中它们的层析行为也相同,必须采用多种系统其 R_f 值均相同时才可确证为该物质。此处采用了酸性展开系统和碱性展开系统共五种:
(1)氯仿-乙醇-浓氨水(3:3:1);(2)苯-乙醇(8:2);(3)丁醇-醋酸-水(8:4:1);
(4)苯-乙醇-浓氨水(6:7:2);(5)丁醇-醋酸-水(3:1:1)。现将三乙二胺和含有杂质的海群生样品在(1)(3)系统中的层析图谱列出如下:



由图中可以看出,不论在碱性系统或酸性系统中海群生样品中的杂质和三乙二胺的 R_f 值均相等,在碱性系统中它们的 R_f 值都大于在酸性系统中的 R_f 值。通过这些系统的展开,证明海群生中的杂质为哌嗪环合中的副产物三乙二胺。

为了进一步证明三乙二胺与其它质量标准的关系,在不含三乙二胺的样品中分别加入不同量的三乙二胺与枸橼酸结盐后就熔点、含量、干燥失重进行了比较。实验结果如下:

* 哌嗪的合成路线



样品中三乙二胺含量(%)	熔 点(°C)	含 量(%)	加醋酐情况	薄层斑点情况	干燥失重(%)
0	136.2~137.5	99.90	不 红	无三乙二胺斑点	0.08
1	135.2~137	100.6	15分钟不变 22分钟微黄	三乙二胺点 ⁺	0.31
2	134~136	100.8	15分钟不变 16分钟微黄	三乙二胺点 ⁺⁺	0.67
4	133~134.5	102.25	10分钟微黄 16分钟红	三乙二胺点 ⁺⁺⁺	0.98
10	127~131	107.15	10分钟红 16分钟大红	三乙二胺点 ⁺⁺⁺⁺	1.53

(三) 海群生中三乙二胺限度标准的制定:

以上实验说明三乙二胺是影响海群生质量的主要原因。

为了控制海群生的质量,除了生产上采取一定措施外,江苏省编制国家新药典领导小组建议在海群生检查项目中增加三乙二胺的检查。

三乙二胺对照液的制备:精密称取无水三乙二胺 0.1000g,置 50ml 量瓶中,加水至刻度,摇匀。

精密量取上述溶液 5ml,置 10ml 量瓶中,加水至刻度,摇匀,为 1 号对照液。再取 5ml 1 号对照液稀释至 10ml,为 2 号对照液。依次制成 3 号、4 号、5 号、6 号对照液。

海群生中三乙二胺限度的规定:在薄层板上各点 1、2、3、4、5、6 号对照液 $10\mu\text{l}$ 展开后显色,得一系列斑点。另外,对南京制药厂、青岛制药厂和杭州制药厂数十批样品进行考核,三乙二胺的含量介于 3 号与 4 号对照液之间,故规定海群生样品中三乙二胺在薄层板上所显的斑点面积不得大于 4 号对照液斑点所显的面积。我国 1977 版药典已经采纳该法作为海群生中检查三乙二胺的法定方法。

讨 论

三乙二胺为酰化作用的催化剂^[5],主要用于有机羟基化合物、酚类以及胺类等的酰化。枸橼酸为有机羟基羧酸,在三乙二胺存在下易被醋酐酰化。曾做过如下实验:

取枸橼酸加醋酐直火加热,溶液由红→紫→兰。

三乙二胺加醋酐直火加热无变化。

枸橼酸加醋酐加少量三乙二胺微温即显深红色,此即海群生在含量测定时加醋酐放置过程中变色的原因。

实验证明,原料哌嗪中含有较多的三乙二胺。如果原料规格不加以控制,产品质量就无法保证。因此生产上控制原料规格很重要。应该制定哌嗪投料时的规格标准,同时再测定海群生中三乙二胺的限量。这样,才能积极地从根本上解决海群生的质量问题。目前南京制药厂采取水洗的办法控制哌嗪的质量。因三乙二胺在水中溶解度较哌嗪大得多,可以在哌嗪离心甩滤时以一定量的水淋洗,以减少哌嗪中三乙二胺的含量。

参 考 文 献

- [1] B P 1973, 160
- [2] USP 19, 141
- [3] 日本药局方第九改正解说书 C-534
- [4] 中华人民共和国药典二部 1963, 175
- [5] Schenk G H et al: Anal Chem 36(4): 914, 1964