

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810146538.8

[51] Int. Cl.

A61K 9/19 (2006.01)

A61K 31/661 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07F 9/165 (2006.01)

[43] 公开日 2009 年 1 月 21 日

[11] 公开号 CN 101347412A

[22] 申请日 2008.9.2

[21] 申请号 200810146538.8

[71] 申请人 大连美罗药业股份有限公司

地址 116023 辽宁省大连市高新技术园区七
贤岭敬贤街 29 号

共同申请人 大连理工大学

[72] 发明人 孟庆伟 苗蔚荣 都 健 张成海
陈祥麟 郝雅男 李红梅 董述祥

权利要求书 3 页 说明书 20 页 附图 4 页

[54] 发明名称

三水合氨磷汀结晶冻干制剂及其制备方法

[57] 摘要

本发明属于药物制剂领域，公开了一种无菌的三水合氨磷汀结晶冻干制剂及其制备方法。本发明的三水合氨磷汀结晶冻干制剂，由含有氨磷汀、丙酮与乙醇混合溶剂和水组成的混合溶液，经除去热原、0.22 μm 膜过滤除菌，灌装，再经预冻、升华干燥、解析干燥、充气、压塞，而制得。本发明的三水合氨磷汀结晶冻干制剂性能稳定，其制备过程便利，工艺时间短，冻干工艺时间小于 35 小时，节能、高效，适合规模化生产，易于运输和贮存。

1、一种无菌的三水合氨磷汀结晶冻干制剂，其特征是，由含有氨磷汀、丙酮与乙醇混合溶剂和水组成的混合溶液，经除去热原、过滤除菌，冻干后制得。

2、根据权利要求1所述的三水合氨磷汀结晶冻干制剂，其特征是，所述含有氨磷汀、丙酮与乙醇混合溶剂和水组成的混合溶液中，含有：氨磷汀 50~400mg/ml， 1~30%体积百分比的丙酮和乙醇混合溶剂， 和 65~99%体积百分比的水。

3、根据权利要求2所述的三水合氨磷汀结晶冻干制剂，其特征是，所述含有氨磷汀、丙酮与乙醇混合溶剂和水组成的混合溶液中，含有：氨磷汀 80~200mg/ml， 6~15%体积百分比的丙酮与乙醇混合溶剂， 和 85~94%体积百分比的水。

4、根据权利要求1、2或3所述的三水合氨磷汀结晶冻干制剂，其特征是，所述的丙酮与乙醇的混合溶剂，丙酮与乙醇配比为 0.2~4.0:1，按体积百分比计。

5、根据权利要求4所述的三水合氨磷汀结晶冻干制剂，其特征是，所述的丙酮与乙醇的混合溶剂，丙酮与乙醇配比为 0.5~2.0:1，按体积百分比计。

6、根据权利要求1所述的三水合氨磷汀结晶冻干制剂，其特征是，所述氨磷汀来自三水合氨磷汀晶体。

7、根据权利要求6所述的三水合氨磷汀结晶冻干制剂，其特征是，所述三水合氨磷汀晶体为按如下方法得到的三水合氨磷汀晶体：

步骤1：将反应物 N-(2-溴乙基)-1,3-丙二胺双氢溴酸盐与硫代磷酸钠按 1.01~1.2 : 1.0 的摩尔比例溶解于水中，加入极性非质子溶剂二甲基亚砜作为促进剂，在 10~40℃反应；反应后，反应物溶液不用醇析，直接冷却析

出粗产品三水合氨磷汀粗品;

步骤 2: 将步骤 1 得到的三水合氨磷汀粗品进行第一次重结晶提纯, 将三水合氨磷汀粗品溶解于水中, 然后用甲醇析出, 得到无结晶水氨磷汀;

步骤 3: 将步骤 2 得到的无结晶水氨磷汀进行第二次重结晶提纯, 将无结晶水氨磷汀溶解于水中, 并用无结晶水氨磷汀重量的 0.1~1.50% 的活性炭脱色, 然后用乙醇析出三水合氨磷汀晶体, 其纯度 $\geq 99.5\%$, 硫醇含量 $\leq 0.1\%$, 其他有关物质含量 $\leq 0.1\%$;

在上述制备方法中, 所用水为纯水或去离子水。

8、根据权利要求 1-7 中任一项所述的三水合氨磷汀结晶冻干制剂, 其特征是, 所述三水合氨磷汀结晶冻干制剂按如下方法制得, 该方法包括以下步骤:

- (1) 制备含有氨磷汀、丙酮与乙醇混合溶剂和水组成的混合溶液: 配制含有氨磷汀、丙酮与乙醇混合溶剂和水的混合溶液;
- (2) 除热原、除菌: 对 (1) 步骤配制好的溶液用活性炭脱色, 除去热原, 过滤除菌;
- (3) 灌装: 在 100 级洁净区条件下, 灌装 (2) 步骤处理后的溶液到冻干管制注射剂瓶中, 灌装含氨磷汀 80~900mg/瓶, 其溶液量 0.5~6.0ml/瓶;
- (4) 预冻: 把灌装含有无菌氨磷汀溶液的管制注射剂瓶放置到冻干机的板层上, 通过设置板层温度进行冷冻, 板层温度达 -16°C ~ -45°C , 降温速度 20 分钟/ $^{\circ}\text{C}$ ~1 分钟/ $^{\circ}\text{C}$, 维持时间 2~16 小时;
- (5) 升华干燥: 在 -45°C ~ -10°C 范围进行升华干燥, 将在 (4) 步骤基础上, 开动冻干机冷凝室制冷温度低于 -47°C , 开动真空泵使冻干机内真空度升至 300mTorr 以上, 缓慢通过板层加温, 使板层温度升至 -25°C ~ -10°C 范围内进行升华干燥, 时间 16~48 小时;

(6) 解析干燥: 在(5)步骤结束后, 升温至 $-5^{\circ}\text{C} \sim 25^{\circ}\text{C}$ 进行解析干燥, 时间 2~10 小时;

(7) 充气、压塞: 在(6)步骤结束, 在 $2^{\circ}\text{C} \sim 25^{\circ}\text{C}$ 范围内引入无菌的惰性气体, 再压塞, 得到无菌的三水合氨磷汀结晶冻干制剂。

9、根据权利要求 8 所述的三水合氨磷汀结晶冻干制剂, 其特征是, 在所述(1)步骤中, 向三水合结晶氨磷汀加入注射用水, 室温搅拌溶解后, 搅拌状态下加入丙酮与乙醇的混合溶剂, 加注射用水定容, 得到含有氨磷汀、丙酮与乙醇混合溶剂和水的混合溶液;

在所述(3)步骤灌装中, 在 100 级洁净区条件下, 灌装(2)步骤处理后的溶液到冻干管制注射剂瓶中, 含氨磷汀 100~700mg/瓶, 其溶液量 1.0~6.0ml/瓶;

在所述(4)步骤预冻中, 把灌装含有无菌氨磷汀溶液的管制注射剂瓶放置到冻干机的板层上, 通过设置板层温度进行冷冻, 板层温度达 $-20^{\circ}\text{C} \sim -30^{\circ}\text{C}$, 降温速度 15 分钟/ $^{\circ}\text{C} \sim 3$ 分钟/ $^{\circ}\text{C}$, 维持时间 4~8 小时;

且整个冻干过程时间控制在 35 小时内完成。

10、根据权利要求 1 所述的三水合氨磷汀结晶冻干制剂, 其特征是, 所述含有氨磷汀、丙酮与乙醇混合溶剂和水组成的混合溶液中进一步包括赋形剂甘露醇。

三水合氨磷汀结晶冻干制剂及其制备方法

技术领域

本发明属于药物制剂领域，更具体而言，涉及一种无菌的三水合氨磷汀结晶冻干制剂及其制备方法。

背景技术

氨磷汀化学名称为 S-2-（3-氨基丙基胺）乙基硫代磷酸，也称为 WR-2721。1996 年美国 FDA（食品药品监督管理局）批准美国 Bioscience 公司的 Ethyol（氨磷汀）冻干注射粉针，2001 年中国 SFDA（食品药品监督管理局）首家批准我国大连美罗大药厂注射用氨磷汀（商品名：阿米福汀）冻干粉针上市。氨磷汀化学结构式为 $\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}-(\text{CH}_2)_2-\text{SPO}_3\text{H}_2$ ，是一种有机硫化磷酸化合物。它在组织中被与细胞膜结合的碱性磷酸酶水解脱磷酸后，成为具有活性的代谢产物 WR-1065，其化学结构式为 $\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}-(\text{CH}_2)_2-\text{SH}$ 。因巯基具有清除组织中自由基的作用，故能减低顺铂、环磷酰胺及丝裂霉素等的毒性。氨磷汀为正常细胞保护剂，主要用于各种癌症的辅助治疗。在对肺癌、卵巢癌、乳腺癌、鼻咽癌、骨肿瘤、消化道肿瘤、血液系统肿瘤等多种癌症患者进行化疗前应用氨磷汀，可明显减轻化疗药物所产生的肾脏、骨髓、心脏、耳及神经系统的毒性，而不降低化疗药物的药效。放疗前应用氨磷汀可显著减少口腔干燥和粘膜炎的发生。氨磷汀用于保护 HIV 受感染病人应用核苷类逆转录酶抑制剂齐多福汀（AZT）免受有害副作用。

氨磷汀的水溶液或失水状态下是不稳定的，目前研究稳定的、含三水合结晶氨磷汀制剂报道有：

1. 中国专利 ZL00119038.5 公开了无需冻干，在无菌条件下通过调节 pH，

冷冻,得到含三个结晶水的氨磷汀晶体,结晶出的氨磷汀必须过筛后才能分装成粉针剂,但不需经过冻干过程。

2. 中国专利 ZL93117436.8 公开了含氨磷汀的 C_1-C_5 醇和水的溶液进行冻干结晶,而制备稳定的结晶氨磷汀组合物。该方法虽然公开使用含 C_1-C_5 醇和水的溶液,冷冻干燥的过程需进行退火,温度范围宽,实施例中只有乙醇作为溶剂的实施例,冷冻干燥时间长超过 50 小时。
3. 中国专利 ZL200410037763.X 公开了氨磷汀的丙酮和水的溶液进行冻干结晶,制备稳定的结晶氨磷汀制剂,该方法公开使用丙酮溶剂,冷冻干燥的过程需进行退火,温度范围宽,冷冻干燥时间超过 50 小时。

虽然前述专利公开了三种制备稳定结晶氨磷汀的方法,由于氨磷汀市场需求量大,人们需要研究出更加便利、节能、高效制备稳定氨磷汀制剂的方法。

发明内容

因此,本发明的目的在于提供一种改进无菌的三水合氨磷汀结晶冻干制剂。本发明人采用冷冻干燥工艺制备无菌的三水合氨磷汀结晶冻干制剂,对其制备过程工艺条件和制剂稳定性进行大量的研究,得到制备过程便利,工艺时间短、节能、高效,适合规模化生产,同时该制剂性能稳定,易于运输和储存。

本发明提供一种无菌的三水合氨磷汀结晶冻干制剂,其特征是,由含有氨磷汀、丙酮与乙醇混合溶剂和水组成的混合溶液,经除去热原、 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤除菌,冻干后制得。

所述氨磷汀为按照本领域常规或已知的方法制备的氨磷汀或其水合物,并优选为三水合氨磷汀晶体,最优选按如下方法得到的三水合氨磷汀晶体:

步骤 1: 将反应物 N-(2-溴乙基)-1,3-丙二胺双氢溴酸盐与硫代磷酸钠按

1.01~1.2 : 1.0 的摩尔比例溶解于水中，加入极性非质子溶剂作为促进剂，在 10~40℃反应；反应后，反应物溶液不用醇析，直接冷却析出粗产品三水合氨磷汀粗品；

步骤 2: 将步骤 1 得到的三水合氨磷汀粗品进行第一次重结晶提纯，即将三水合氨磷汀粗品溶解于水中，然后用甲醇析出，得到无结晶水氨磷汀；

步骤 3: 将步骤 2 得到的无结晶水氨磷汀进行第二次重结晶提纯，即将无结晶水氨磷汀溶解于水中，并用无结晶水氨磷汀重量的 0.1~1.50%的活性炭脱色，然后用乙醇析出三水合氨磷汀晶体，其纯度 $\geq 99.5\%$ ，硫醇含量 $\leq 0.1\%$ ，其他有关物质含量 $\leq 0.1\%$ （按美国 USP29）。

在上述制备方法中，所用水为纯水或去离子水。

更具体而言：

在所述步骤 1 中，反应物 N-(2-溴乙基)-1,3-丙二胺双氢溴酸盐与硫代磷酸钠按 1.01~1.20 : 1.0 的摩尔比例置于水中搅拌溶解，并优选 1.03~1.10 : 1.0；溶解所用的水重量是 N-(2-溴乙基)-1,3-丙二胺双氢溴酸盐加入量的 1.3~3.8 倍，并优选 1.7~2.5 倍；溶解温度范围 10~40℃；所述的极性非质子溶剂为二甲基亚砜，二甲基亚砜的加入量是 N-(2-溴乙基)-1,3-丙二胺双氢溴酸盐加入重量的 1.0~2.8 倍；反应温度控制在 10~40℃，并优选 15~25℃；反应过程中用硝酸银溶液检验反应溶液，至无黑色沉淀析出；反应结束后，将反应产物溶液直接降温冷却至 -15℃~10℃，优选 -10℃~5℃，维持 2~24 小时，过滤得三水合 3-氨基丙基胺乙基硫代磷酸（氨磷汀）结晶粗品。

在所述步骤 2 中，即第一次重结晶提纯：用纯水溶解步骤 1 制备的三水合氨磷汀粗品，纯水用量是三水合氨磷汀粗品重量的 1.0~6.0 倍，并优选 2.5~4.5 倍；溶解温度 15~45℃；溶解后，加入甲醇，甲醇加入重量是加纯水量的 0.1~0.8 倍，并优选 0.2~0.6 倍；降温至 20℃~-15℃，优选降温温度范围为 8℃~-5℃，析出无结晶水氨磷汀。

在所述步骤3中,即第二次重结晶提纯:用纯水溶解步骤2制备的无结晶水氨磷汀,用水量是加入无结晶水氨磷汀重量的1.0~6.0倍,并优选2.5~4.5倍;溶解温度15~45℃;并优选加入无结晶水氨磷汀重量的0.1~1.5%的活性炭进行脱色,搅拌15分钟以上,然后过滤;向所得滤液中加入乙醇,乙醇加入重量是所加入纯水量的0.05~0.4倍,并优选0.1~0.3倍;降温至20℃~-15℃,优选降温温度范围为8℃~-5℃,析出含三个结晶水的氨磷汀晶体。

然后按常规方法进行过滤、干燥。过滤后,用乙醇溶液洗涤晶体,真空干燥,得高纯稳定的三水合3-氨基丙基胺乙基硫代磷酸(氨磷汀)结晶化合物。

按上述方法得到的三水合3-氨基丙基胺乙基硫代磷酸(氨磷汀)晶体,收率大于65%,纯度 $\geq 99.5\%$,硫醇含量 $\leq 0.1\%$,其它杂质 $\leq 0.1\%$,其稳定性大大提高,从而副作用大大减少,可用于制备药物制剂用。

在本发明提供的三水合氨磷汀结晶冻干制剂中,所述的丙酮与乙醇的混合溶剂,丙酮与乙醇配比为0.2~4.0:1(按体积比),优选丙酮与乙醇的配比为0.5~2.0:1(按体积比)。

本发明所述含有氨磷汀、丙酮与乙醇混合溶剂和水组成的混合溶液中,含有:氨磷汀50~400mg/ml,优选含有氨磷汀80~200mg/ml;1~30%(体积百分比)丙酮和乙醇混合溶剂,优选6~15%(体积百分比)的丙酮与乙醇混合溶剂;65~99%(体积百分比)的水,优选85~94%(体积百分比)的水。

更具体而言,本发明提供的无菌的三水合氨磷汀结晶冻干制剂按如下方法制得,该方法包括以下步骤:

- (1) 制备含有氨磷汀、丙酮与乙醇混合溶剂和水组成的混合溶液:按上述比例关系配制含有氨磷汀、药学上可接受的丙酮与乙醇混合溶剂和水的混合溶液;

- (2) 除热原、除菌：对(1)步骤配制好的溶液用活性炭脱色，除去热原，过滤除菌；
- (3) 灌装：在100级洁净区条件下，灌装(2)步骤处理后的溶液到冻干管制注射剂瓶中，灌装含氨磷汀80~900mg/瓶，其溶液量0.5~6.0ml/瓶，优选含氨磷汀100~700mg/瓶，其溶液量1.0~6.0ml/瓶；
- (4) 预冻：把灌装含有无菌氨磷汀溶液的管制注射剂瓶放置到冻干机的板层上，通过设置板层温度进行冷冻，板层温度达-16℃~-45℃，优选-20℃~-30℃，降温速度20分钟/℃~1分钟/℃，优选15分钟/℃~3分钟/℃，维持时间2~16小时，优选4~8小时；
- (5) 升华干燥：在-45℃~-10℃范围进行升华干燥，将在(4)步骤基础上，开动冻干机冷凝室制冷温度低于-47℃，开动真空泵使冻干机内真空度升至300mTorr以上，缓慢通过板层加温，使板层温度升至-25~-10℃范围内进行升华干燥，时间16~48小时；
- (6) 解析干燥：在(5)步骤结束后，升温至-5℃~25℃进行解析干燥，时间2~10小时；
- (7) 充气、压塞：在(6)步骤结束，在2℃~25℃范围内引入无菌的惰性气体，再压塞，得到无菌的三水合氨磷汀结晶冻干制剂；

且上述整个冻干过程时间可控制在35小时内完成，时间短，节能。

在所述的(1)步骤中，还可在所得溶液中加入常规药学上可接受的辅料中的一种或一种以上的物质，如赋形剂、镇痛剂和缓冲剂等。

在所述的(2)步骤中，所述活性炭用量可以是氨磷汀用量的0.05%~5%（重量百分比），优选0.1%~2.0%。加入活性炭后，在20℃~25℃下搅拌15~30分钟，过滤脱碳。所述过滤除菌可以用0.22μm微孔滤膜过滤。

所述的(4)步骤冷冻温度达-25℃，冷冻2~10小时，优选3~5小时。

所述的(5)步骤升华干燥，优选温度冷冻在-25℃时，将冻干机真空度升至300mTorr以上，缓慢加热，板层温度由-25℃缓慢升至-20~-10℃，

范围进行升华干燥 16~24 小时。

所述的(6)解析干燥步骤,控制冻干机得板层温度在 $-5^{\circ}\text{C} \sim 25^{\circ}\text{C}$,优选 $-5^{\circ}\text{C} \sim 15^{\circ}\text{C}$,保持 5-10 小时。

本发明无菌的三水合氨磷汀结晶冻干制剂为正常细胞保护剂,主要用于各种癌症的辅助治疗,减轻放、化疗对人体正常组织的毒副作用。使用本发明的冻干粉针一般每次使用剂量在 200~900mg 范围,把冻干粉针溶解于注射用水或其它注射液,所述注射液是常规注射液,如 5%葡萄糖注射液或 0.9%氯化钠注射液。给药方式可静脉内、肌内、皮下、腔内和鞘内给药。

本发明的无菌含三水合氨磷汀结晶冻干制剂性能稳定,使用时溶解充分迅速,其制备过程便利,工艺时间短、节能、高效,适合规模化生产,易于运输和储存。

附图说明

图 1A 和图 1B 是本发明制备实施例 1 得到的三水合氨磷汀晶体的 XRPD 谱图和数据。

图 2 是本发明制备实施例 1 得到的三水合氨磷汀晶体的 X 射线单晶衍射图。

图 3 是本发明制备实施例 1 得到的三水合氨磷汀晶体的电子显微镜照片,从图中清楚表明三水合氨磷汀是以晶体形式存在,并且是扁平状晶体。

具体实施方式:

下面实施例是对本发明进一步说明和描述,这些说明和描述并不是对本发明内容的进一步限制。

一. 高纯稳定的三水合氨磷汀晶体的制备

制备实施例 1

步骤 1: 合成

在 50L 不锈钢反应釜中加入纯水 13.6kg, 十二水硫代磷酸钠 19.2mol

(7.6kg), 搅拌下加入 N-(2-溴乙基)-1,3-丙二胺双氢溴酸盐 19.8mol (6.8kg, 3%过量), 缓慢加入 11.0kg DMSO, 同时维持反应温度不超过 25℃。滴加完 DMSO 后, 用硝酸银溶液监测反应溶液, 至无黑色沉淀析出, 反应结束, 将反应溶液降温至 0℃, 每小时搅拌 5 分钟, 维持 18 小时。离心过滤, 得三水合 3-氨基丙基胺乙基硫代磷酸粗品 6.1kg。

步骤 2: 第一次重结晶提纯

在 50L 不锈钢结晶釜中加入 22.0kg 纯水, 加入上步制备的 3-氨基丙基胺乙基硫代磷酸粗品 6.1kg, 在室温下溶解, 加入活性炭 95.0g, 室温下搅拌 15 分钟, 过滤, 母液中加入甲醇 8.7kg, 通冷却水降温至 0℃, 维持 18 小时, 离心过滤, 得一次重结晶精制无结晶水 3-氨基丙基胺乙基硫代磷酸 4.8kg。

步骤 3: 第二次重结晶提纯

在 50L 不锈钢结晶釜中加入 20.0kg 纯水, 加入第一次重结晶得到的无结晶水 3-氨基丙基胺乙基硫代磷酸 4.8kg, 在室温下搅拌溶解, 加入活性炭 75.0g, 室温下搅拌 15 分钟, 过滤, 母液中加入乙醇 3.2kg, 通冷却水降温至 0℃, 维持 18 小时, 离心过滤, 30℃真空干燥, 得三水合 3-氨基丙基胺乙基硫代磷酸 3.6kg。采用 HPLC 法 (按美国 29 版药典方法) 分析, 纯度 99.81%, 硫醇含量 0.021%, 其他有关物质 0.078%。

表 1 给出了上述制备的三水合 3-氨基丙基胺乙基硫代磷酸晶体与市场上氨磷汀含量和有关物质含量的对比:

序号	厂家和批号	含量	硫醇	二硫	其它
1	市场 (07301)	99.01	0.55	0.19	0.23
2	市场 (07313)	98.99	0.55	0.22	0.24
3	本制备实施例	99.81	0.021	0.0	0.078

从表 1 中可以看出, 本发明制备的三水合氨磷汀晶体的含量要高于市场购置的三水合氨磷汀, 同时有关物质硫醇、二硫化合物及其它有关物质都大大低于目前市场购置的产品。

采用 D/MAX-2400 X 射线衍射仪, 在管压 40KV, 管流 100mA, Cu 靶 K α , 测试角度 4-60°, 6°/min, 防扩散狭缝 1°, 防漫反射狭缝: 1°, 接收狭缝 0.15mm, 测得该晶体 X-射线粉末衍射图如图 1A 和图 1B 所示。

图 3 为该晶体的电子显微镜照片, 从图中清楚表明三水合氨磷汀以晶体形式存在, 并且是扁平片状晶体。

三水合氨磷汀晶体结构测定

三水合氨磷汀晶体的晶体结构已被测定。在室温下用钼辐射完成晶体测量, 单位晶胞的测定和数据的收集。

结构由直接方法求解并经全矩阵最小二乘法和傅立叶差分法精确。所有非氢原子各向异性地准确, 连接至氮和水的氧原子的氢原子由傅立叶差分图定位并各向同性地精确。

化合物的手性空间群 P2₁: 2: 2 中晶化, 三水合 3-氨基丙基胺乙基硫代磷酸晶体结构图如附图 2 所示。所用仪器 CCD X 射线单晶衍射仪, 型号 Bruker Smart APEXII 型。

表 2. 三水合 3-氨基丙基胺乙基硫代磷酸晶体 X-单晶衍射数据

经验式	C ₅ H ₂₁ N ₂ O ₆ P S
分子式质量	268.27
晶体颜色, 晶型	无色, 扁平针状
测试温度	273(2) K
测试波长	0.71073 Å
晶体体系	斜方晶
空间群	P2(1)2(1)2(1)
晶体参数	a = 6.7582(3) Å
	b = 8.4489(4) Å
	c = 21.5220(11) Å
	V = 1228.89(10) Å ³
Z 值	4
密度 D _{calc}	1.417 mg / m ³
吸收系数	0.405 mm ⁻¹
单胞中电子数目 F(000)	552
晶体尺寸	0.70 x 0.30 x 0.20 mm
数据采集的 θ 角范围	1.89 to 35.70 deg.
最小最大衍射指标	-10 ≤ h ≤ 3
	-11 ≤ k ≤ 11
	-29 ≤ l ≤ 29
收集衍射点数目/独立衍射点	8577 / 3608 [R(int) = 0.0241]
θ = 35.7 的完成率	69.0 %
吸收校正方法	experiential
精修方法	对 F ² 进行全矩阵最小二乘
精修衍射点数/约束条件数/精修参数数目	3608 / 0 / 137
对 F ² 的吻合度	1.070
最终 R 因子 (最终偏离因子) [I > 2 σ (I)]	R ₁ = 0.0430, wR ₂ = 0.1279
R 因子 (全部数据) :	R ₁ = 0.0464, wR ₂ = 0.1313
绝对结构参数	-0.02 (10)
消光系数	0.004 (3)
在终差分图中最大峰	0.479 e ⁻ / Å ³
在终差分图中最大峰	-0.487 e ⁻ / Å ³

表 3. 位置参数和温度因子参数

原子	x	y	z	U(eq)
P(1)	2415(1)	5105(1)	907(1)	21(1)
S(1)	3808(1)	5774(1)	1744(1)	33(1)

O(3)	635(2)	6190(2)	880(1)	34(1)
N(2)	2646(2)	-1329(3)	-13(1)	28(1)
O(2)	1914(2)	3360(2)	969(1)	29(1)
O(1)	3863(2)	5403(2)	385(1)	33(1)
N(1)	5491(2)	2031(3)	1292(1)	25(1)
C(1)	6162(3)	4709(3)	1721(1)	33(1)
C(2)	6046(3)	2961(3)	1851(1)	32(1)
C(3)	5365(3)	304(3)	1413(1)	30(1)
C(4)	5009(3)	-610(3)	818(1)	29(1)
C(5)	2983(3)	-304(3)	538(1)	29(1)
O(3W)	-1449(2)	2254(3)	443(1)	43(1)
O(2W)	950(4)	1630(3)	2058(1)	51(1)
O(1W)	-281(4)	8430(3)	1827(1)	56(1)

表 4. DS1 的键长和键角

P(1)-O(1)	1.5115(17)
P(1)-O(3)	1.5134(16)
P(1)-O(2)	1.519(2)
P(1)-S(1)	2.1109(7)
S(1)-C(1)	1.828(2)
N(2)-C(5)	1.485(3)
N(2)-H(2A)	0.8600

N(2)-H(2B)	0.8600
O(2)-H(2C)	0.8200
O(1)-H(1A)	0.8200
N(1)-C(3)	1.485(3)
N(1)-C(2)	1.487(3)
N(1)-H(1B)	0.8600
C(1)-C(2)	1.506(4)
C(1)-H(1C)	0.9700
C(1)-H(1D)	0.9700
C(2)-H(2D)	0.9700
C(2)-H(2E)	0.9700
C(3)-C(4)	1.514(4)
C(3)-H(3B)	0.9700
C(3)-H(3C)	0.9700
C(4)-C(5)	1.518(3)
C(4)-H(4A)	0.9700
C(4)-H(4B)	0.9700
C(5)-H(5A)	0.9700
C(5)-H(5B)	0.9700
O(1)-P(1)-O(3)	112.63(11)
O(1)-P(1)-O(2)	111.82(11)
O(3)-P(1)-O(2)	114.50(10)
O(1)-P(1)-S(1)	107.54(7)
O(3)-P(1)-S(1)	103.03(7)

O(2)-P(1)-S(1)	106.49(7)
C(1)-S(1)-P(1)	103.47(8)
C(5)-N(2)-H(2A)	120.0
C(5)-N(2)-H(2B)	120.0
H(2A)-N(2)-H(2B)	120.0
P(1)-O(2)-H(2C)	109.5
P(1)-O(1)-H(1A)	109.5
C(3)-N(1)-C(2)	113.03(19)
C(3)-N(1)-H(1B)	123.5
C(2)-N(1)-H(1B)	123.5
C(2)-C(1)-S(1)	115.62(17)
C(2)-C(1)-H(1C)	108.4
S(1)-C(1)-H(1C)	108.4
C(2)-C(1)-H(1D)	108.4
S(1)-C(1)-H(1D)	108.4
H(1C)-C(1)-H(1D)	107.4
N(1)-C(2)-C(1)	112.4(2)
N(1)-C(2)-H(2D)	109.1
C(1)-C(2)-H(2D)	109.1
N(1)-C(2)-H(2E)	109.1
C(1)-C(2)-H(2E)	109.1
H(2D)-C(2)-H(2E)	107.9
N(1)-C(3)-C(4)	111.2(2)
N(1)-C(3)-H(3B)	109.4
C(4)-C(3)-H(3B)	109.4

N(1)-C(3)-H(3C)	109.4
C(4)-C(3)-H(3C)	109.4
H(3B)-C(3)-H(3C)	108.0
C(3)-C(4)-C(5)	113.11(19)
C(3)-C(4)-H(4A)	109.0
C(5)-C(4)-H(4A)	109.0
C(3)-C(4)-H(4B)	109.0
C(5)-C(4)-H(4B)	109.0
H(4A)-C(4)-H(4B)	107.8
N(2)-C(5)-C(4)	110.87(19)
N(2)-C(5)-H(5A)	109.5
C(4)-C(5)-H(5A)	109.5
N(2)-C(5)-H(5B)	109.5
C(4)-C(5)-H(5B)	109.5
H(5A)-C(5)-H(5B)	108.1

二、三水合氨磷汀结晶冻干制剂的制备

实施例 1

溶液配制: 用 100.0g 三水合结晶氨磷汀(大连美罗大药厂), 加入 600ml 注射用水, 室温搅拌溶解后, 搅拌状态下加入 42.1ml 的 95%乙醇和 40ml 丙酮的混合溶剂, 加注射用水定容至 800ml;

除热原、除菌: 室温下加入 0.1g 的针用活性炭, 搅拌 15 分钟, 脱碳过滤, 滤液通过 0.22 μ m 微孔滤膜过滤至澄清;

灌装: 在 100 级洁净区条件下, 将上述澄清溶液灌装于洁净无菌的管

制注射剂瓶中，每瓶 4.0ml（以无水物计含氨磷汀 400mg）；

预冻：把灌装含有无菌氨磷汀溶液的管制注射剂瓶放置到冻干机的板层上，通过设置板层温度进行冷冻，达温度 -25°C ，维持 4 小时；

升华干燥：预冻结束后，开动冻干机冷凝室制冷温度低于 -47°C ，开动真空泵使冻干机内真空度升至 300mTorr 以上，缓慢通过板层加温，使板层温度从 -25°C 升至 -16°C 进行升华干燥，升华干燥 24 小时；

解析干燥：在升华干燥后，通过设置板层温度从 -16°C 升温至 4°C ，维持 4 小时；

充气、压塞：在解析干燥步骤结束，在 4°C 引入无菌的氮气，再压塞，即得到无菌的三水合氨磷汀结晶冻干制剂 A。

实施例 2

按照实施例 1 的方法制备本发明三水合氨磷汀结晶冻干制剂 B，只是采用本发明上述制备的三水合氨磷汀晶体 120.0g；加入 95%的乙醇 33.7ml 和 40ml 丙酮的混合溶剂。

实施例 3

按照实施例 1 的方法制备本发明三水合氨磷汀结晶冻干制剂 C，只是采用本发明上述制备的三水合氨磷汀晶体 60.0g，加入 95%的乙醇 63.2ml 和 60ml 丙酮的混合溶剂。

实施例 4

按照实施例 1 的方法制备本发明三水合氨磷汀结晶冻干制剂 D，只是溶液配制中加入赋形剂甘露醇 80.0g；预冻：把灌装含有无菌氨磷汀溶液的管制注射剂瓶放置到冻干机的板层上，通过设置板层温度进行冷冻，达温度 -30°C ，维持 4 小时；升华干燥：预冻结束后，开动冻干机冷凝室制冷温度低于 -47°C ，开动真空泵使冻干机内真空度升至 300mTorr 以上，缓慢通过板层加温，使板层温度从 -30°C 升至 -20°C 进行升华干燥，升华干燥 24 小时；解析干燥：在升华干燥后，通过设置板层温度从 -20°C 升温至 5°C ，维持 6

小时。

实施例 5

将本发明的三水合氨磷汀结晶冻干制剂 A, B, C, D 置于温度为 $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$, 相对湿度为 $60\%\pm 5\%$ 条件, 分别在 0, 1, 3, 6, 12 个月时取样分析其性状、pH 值、溶液澄清度与颜色、水分、有关物质和含量测定 (按 USP29 方法)。结果见表 5。同时与中国专利 ZL200410037763.X 的实施例 10 数据对比, 见表 5。

表 5 本发明制备注射用三水合氨磷汀结晶冻干制剂与现有技术对比室温稳定性试验结果

序号		性状	pH 值	溶液澄清度与颜色	水分 %	有关物质%			含量
						硫醇	二硫	其它	
0 月	A	白色块状	7.08	澄清无色	19.79	0.014	0.009	0.081	99.64
	B	白色块状	7.20	澄清无色	20.68	0.014	0.008	0.076	100.52
	C	白色块状	7.15	澄清无色	20.12	0.020	0.013	0.080	99.78
	D	白色块状	7.18	澄清无色	20.37	0.016	0.010	0.074	100.11
	A ¹	白色块状	7.24	澄清无色	18.33 ²	0.385			100.32
	B ¹	白色块状	7.26	澄清无色	18.41 ²	0.387			100.54
	C ¹	白色块状	7.22	澄清无色	18.37 ²	0.381			100.59

1 月	A	白色块状	7.11	澄清无色	19.83	0.012	0.115	0.079	99.98
	B	白色块状	7.26	澄清无色	20.81	0.016	0.109	0.076	100.87
	C	白色块状	7.14	澄清无色	20.33	0.017	0.123	0.078	100.03
	D	白色块状	7.20	澄清无色	20.52	0.015	0.119	0.070	100.36
3 月	A	白色块状	7.05	澄清无色	19.72	0.011	0.152	0.071	99.54
	B	白色块状	7.18	澄清无色	20.57	0.015	0.149	0.073	100.37
	C	白色块状	7.12	澄清无色	20.08	0.018	0.167	0.060	99.63
	D	白色块状	7.10	澄清无色	20.26	0.014	0.156	0.068	100.05
	A ¹	白色块状	7.23	澄清无色	18.34	0.384			100.30
	B ¹	白色块状	7.26	澄清无色	18.43	0.392			100.53
	C ¹	白色块状	7.23	澄清无色	18.38	0.387			100.58
6 月	A	白色块状	7.06	澄清无色	19.80	0.019	0.213	0.072	99.78
	B	白色块状	7.22	澄清无色	20.73	0.018	0.204	0.077	100.81
	C	白色块状	7.14	澄清无色	20.19	0.025	0.225	0.065	100.14
	D	白色块状	7.17	澄清无色	20.45	0.021	0.218	0.070	100.33

	A'	白色块状	7.23	澄清无色	18.35	0.385			100.28
	B'	白色块状	7.26	澄清无色	18.42	0.396			100.51
	C'	白色块状	7.23	澄清无色	18.38	0.393			100.58
12月	A	白色块状	7.04	澄清无色	19.83	0.032	0.276	0.076	99.39
	B	白色块状	7.24	澄清无色	20.86	0.036	0.289	0.067	100.36
	C	白色块状	7.16	澄清无色	20.25	0.034	0.303	0.073	99.72
	D	白色块状	7.19	澄清无色	20.47	0.038	0.284	0.069	100.26
	A'	白色块状	7.22	澄清无色	18.35	0.389			100.25
	B'	白色块状	7.26	澄清无色	18.42	0.404			100.49
	C'	白色块状	7.22	澄清无色	18.39	0.398			100.55

注1：中国专利 ZL200410037763.X 中数据，中国专利 ZL200410037763.X 中的氨磷汀含量和相关物质含量的测定方法未公开。

注2：中国专利 ZL200410037763.X 水分含量是用干燥失重法测定。

从表5中发现本发明提供高纯三水合氨磷汀结晶制剂的有关物质含量（<0.10%）低于中国 ZL200410037763.X 公开的（0.35~0.39%）水平，本发明三水合氨磷汀结晶冻干制剂在室温状态一年，其它有关物质没有改变，但硫醇和二硫化合物略有增加，符合 USP29 版要求。

将本发明的制剂 A，B，C，D 置于温度为 $40^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度为

75%±5%条件, 分别在 0, 1, 2, 3, 6 个月时取样分析其性状、pH 值、溶液澄清度与颜色、水分、有关物质和含量测定。结果见表 6。

表 6 本发明制备注射用三水合氨磷汀结晶冻干制剂加速试验结果

序号		性状	pH 值	溶液澄清度与颜色	水分 %	有关物质%			含量
						硫醇	二硫	其它	
0 月	A	白色块状	7.08	澄清无色	19.79	0.014	0.009	0.081	99.64
	B	白色块状	7.20	澄清无色	20.68	0.014	0.008	0.076	100.52
	C	白色块状	7.15	澄清无色	20.12	0.020	0.013	0.080	99.78
	D	白色块状	7.18	澄清无色	20.37	0.016	0.010	0.074	100.11
1 月	A	白色块状	7.10	澄清无色	19.93	0.018	0.115	0.074	99.74
	B	白色块状	7.22	澄清无色	20.84	0.016	0.109	0.078	100.32
	C	白色块状	7.16	澄清无色	20.21	0.022	0.129	0.075	99.84
	D	白色块状	7.14	澄清无色	20.50	0.020	0.124	0.072	100.01
2 月	A	白色块状	7.05	澄清无色	19.84	0.022	0.167	0.075	99.89
	B	白色块状	7.19	澄清无色	20.72	0.024	0.187	0.071	101.18
	C	白色块状	7.11	澄清无色	20.15	0.028	0.194	0.074	99.94

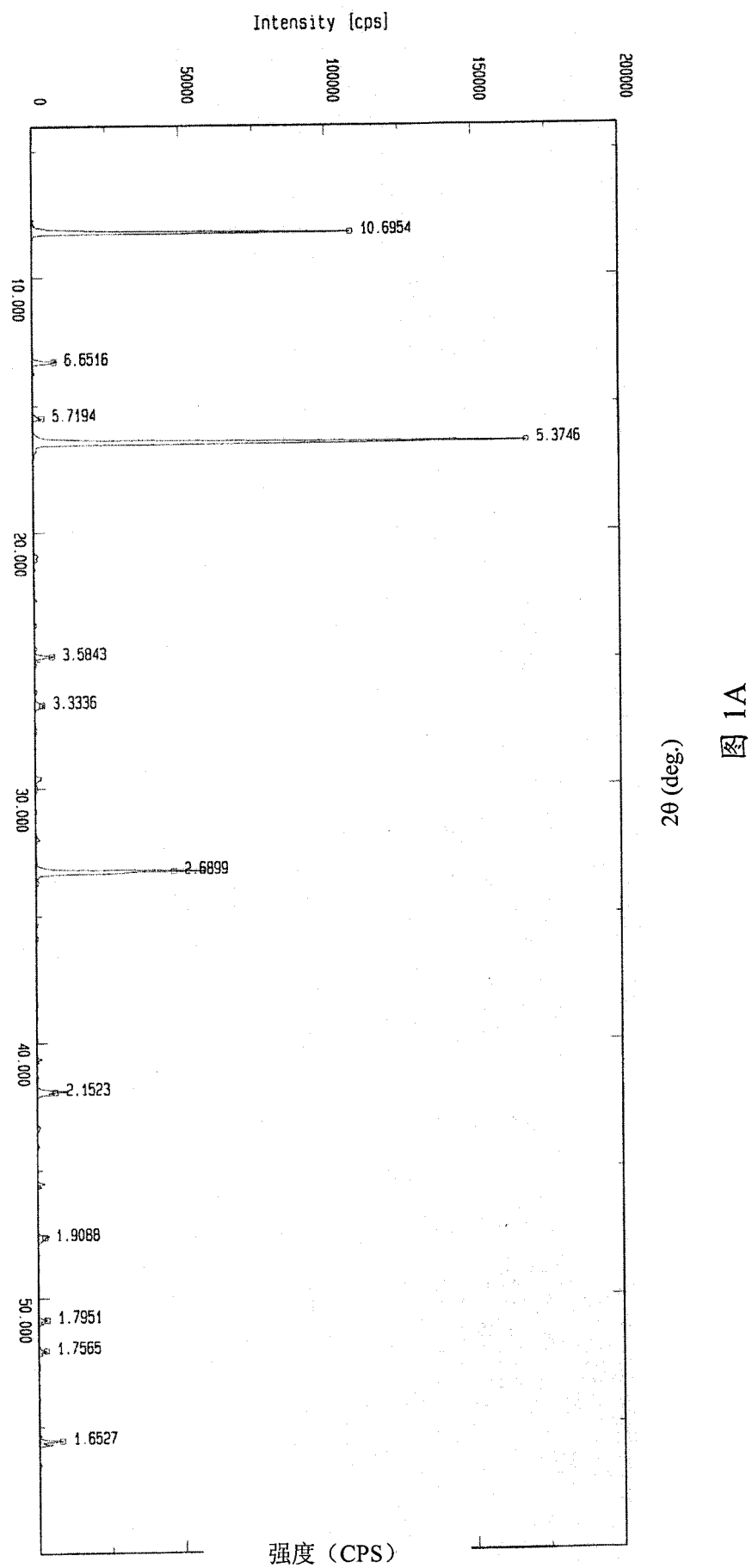
	D	白色块状	7.15	澄清无色	20.45	0.025	0.183	0.072	100.72
3 月	A	白色块状	7.11	澄清无色	19.74	0.023	0.248	0.077	99.24
	B	白色块状	7.25	澄清无色	20.56	0.020	0.260	0.069	100.09
	C	白色块状	7.17	澄清无色	20.05	0.028	0.271	0.078	99.56
	D	白色块状	7.20	澄清无色	20.32	0.021	0.264	0.065	100.64
6 月	A	白色块状	7.06	澄清无色	19.85	0.030	0.374	0.073	99.37
	B	白色块状	7.24	澄清无色	20.74	0.035	0.362	0.080	100.43
	C	白色块状	7.12	澄清无色	20.20	0.038	0.396	0.071	99.78
	D	白色块状	7.16	澄清无色	20.43	0.033	0.389	0.069	101.22

对照在中国专利 ZL93117436.8 中，三水氨磷汀制剂在 50℃，35 天和非晶形氨磷汀 28 天的加速试验结果（表 7）。

表 7 中国专利 ZL93117436.8 的加速试验结果

形态 序号		50℃的时间（天）					
		0	3	7	14	21	28
三水 结晶	1	100.0	106.3	96.9	/	/	96.9 (35)
	2	100.0	97.2	101.1	93.9	71.1	/
	3	100.0	103.6	101.8	97.5	86.7	/
非 晶	1	100.0	/	/	2.8	/	1.5
	2	100.0	/	/	2.0	/	1.4
	3	100.0	/	/	1.7	/	1.4

从表 6、表 7 看出，本发明的三水合氨磷汀结晶冻干制剂的稳定性比中国专利 ZL93117436.8 中公开方法制备的三水氨磷汀结晶更稳定。且本发明的冻干过程时间短、节能。



峰序号 Peak No.	2 θ 2Theta	FWHM	d 值 d-value	强度 Intensity	I/I ₀ I/I ₀
1	8.260	0.165	10.6954	108574	64
2	13.300	0.165	6.6516	7442	4
3	15.480	0.188	5.7194	3100	2
4	16.480	0.165	5.3746	168360	100
5	24.820	0.188	3.5843	6046	4
6	26.720	0.282	3.3336	2638	2
7	33.280	0.188	2.6899	47082	28
8	41.940	0.212	2.1523	6324	4
9	47.600	0.282	1.9088	2492	1
10	50.820	0.188	1.7951	3131	2
11	52.020	0.188	1.7565	2728	2
12	55.560	*****	1.6527	8062	5

图 1B

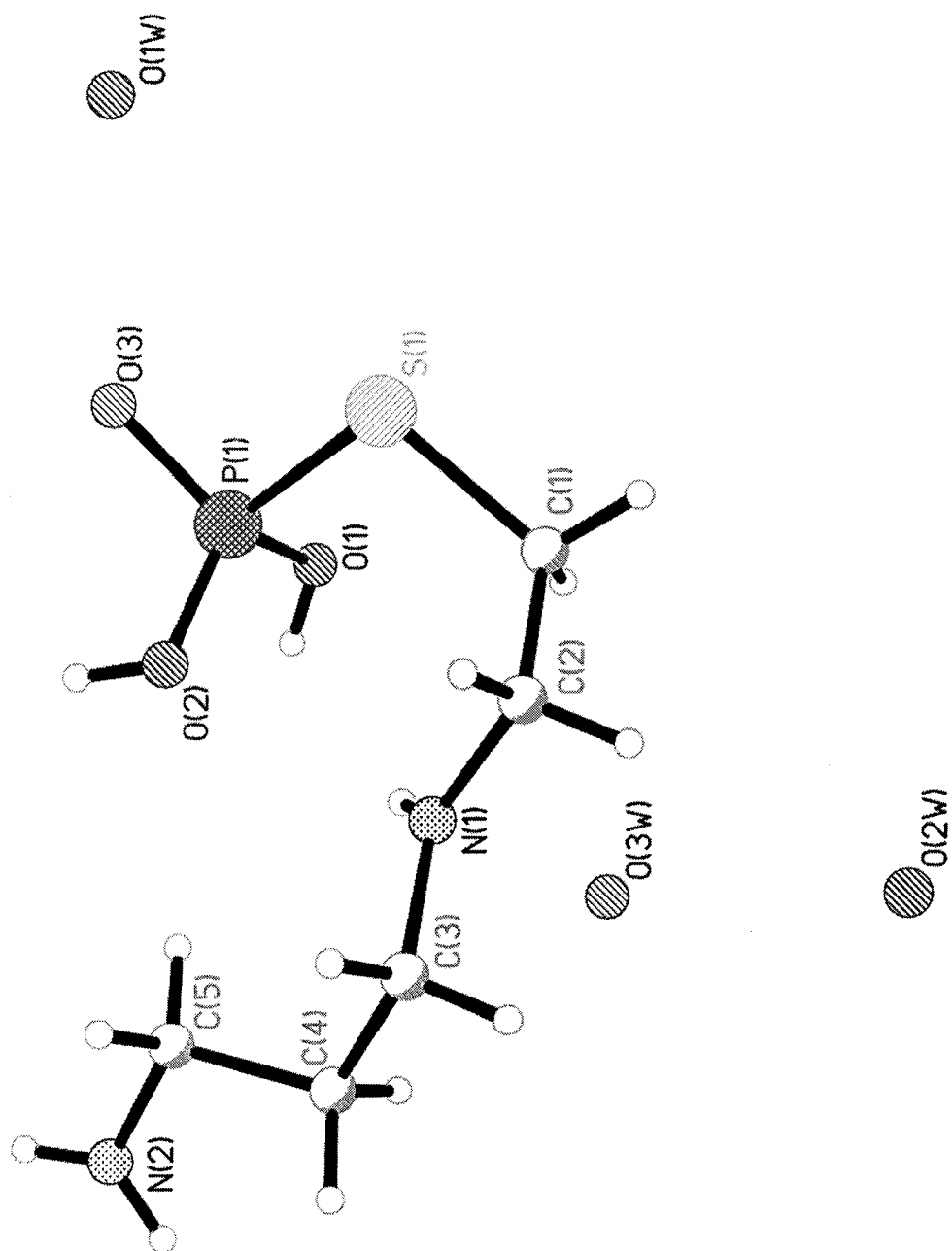


图 2

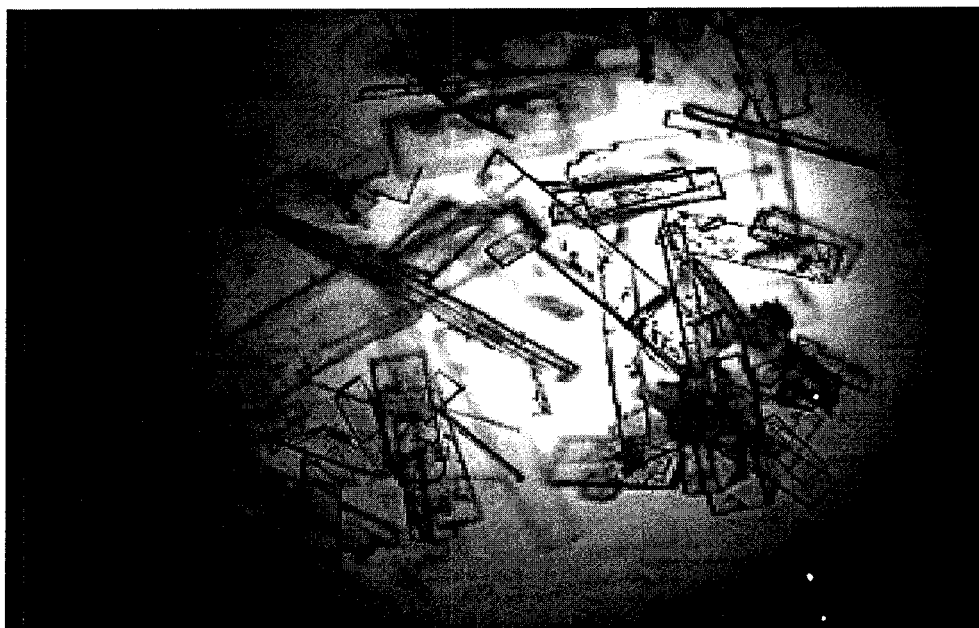


图 3