

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁷

C07D253/065

[12] 发 明 专 利 说 明 书

[21] ZL 专利号 96199754.0

[45]授权公告日 2001 年 7 月 18 日

[11]授权公告号 CN 1068595C

[22]申请日 1996.11.21 [24]颁证日 2001.3.8

[21]申请号 96199754.0

[30]优先权

[32]1995.12.4 [33]US [31]08/566,979

[86]国际申请 PCT/US96/18761 1996.11.21

[87]国际公布 WO97/20828 英 1997.6.12

[85]进入国家阶段日期 1998.7.23

[73]专利权人 圣诺菲-合成实验室公司

地址 法国巴黎

[72]发明人 R·E·菲利昂

[56]参考文献

ANGEW CHEM 84 NO21 1972. 1. 1 V F SENG ET AL

审查员 吴顺华

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 马崇德 周慧敏

权利要求书 2 页 说明书 10 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 制备 3-氨基-1,2,4-苯并三嗪二氧化物的方法

[57]摘要

本发明涉及在均匀条件下将苯并呋咱-1 氧化物与氨基氰二钠反应,然后在缓冲溶液中结晶制备 3-氨基-1,2,4-苯并三嗪 1,4-二氧化物的方法。在优选方案中,该方法包括将苯并呋咱-1 氧化物与氨基氰和氢氧化钠在均匀条件下反应,然后在丙酮和乙酸的混合物中纯化。

ISSN 1008-4274

权 利 要 求 书

1. 一种制备 3-氨基-1,2,4-苯并三嗪 1,4-二氧化物的方法, 包括以下步骤:

- 5 a) 将摩尔/体积比为 1: 3 的苯并咪唑-1 氧化物的二甲亚砜溶液加到装在反应容器中在约 55°C - 65°C 的摩尔/体积比为 3: 2 的氰氨基二钠的水溶液中, 得到 3-氨基-1,2,4-苯并三嗪 1,4-二氧化物钠盐为沉淀物;
- b) 滤出沉淀, 将其悬浮于过量水中;
- c) 在悬浮液中加入约 3.5 摩尔当量甲磺酸形成溶液;
- 10 d) 过滤溶液, 除去不溶于酸的杂质;
- e) 将过滤的溶液倒入含有过量乙酸钠的缓冲溶液中, 并使之发生结晶;
- f) 过滤并用水洗涤晶粒;
- g) 将洗涤的晶粒放回到上述反应容器中, 并与 5 倍体积的水一起
- 15 搅拌; 及
- h) 过滤晶粒, 用丙酮冲洗, 得到纯 3-氨基-1,2,4-苯并三嗪 1,4-二氧化物。

2. 权利要求 1 的方法, 进一步包括干燥和匀化纯 3-氨基-1,2,4-苯并三嗪 1,4-二氧化物。

20 3. 权利要求 1 的方法, 其中所说苯并咪唑-1 氧化物是加到约 60°C 的所说氰氨基二钠溶液中。

4. 权利要求 1 的方法, 其中在步骤(b)中滤液是按体积比为 1: 6 悬浮于水中。

25 5. 一种制备 3-氨基-1,2,4-苯并三嗪 1,4-二氧化物的方法, 包括以下步骤:

- a) 将摩尔/体积比为 1: 3 的苯并咪唑-1 氧化物的二甲亚砜溶液加到在约 55°C - 65°C 摩尔比为 3: 6 的氨基氰和氢氧化钠水溶液中, 得到 3-氨基-1,2,4-苯并三嗪 1,4-二氧化物钠盐为部分悬浮液/溶液;
- b) 用体积比约为 1: 6 的水稀释部分悬浮液/溶液, 得到含有碱
- 30 不溶杂质的溶液;
- c) 过滤溶液, 除去碱不溶杂质;
- d) 用稍微过量的冰醋酸中和溶液, 得到粗的结晶混合物;

- e) 冷却结晶混合物并过滤收集湿饼形状的固体;
- f) 搅拌下, 加入约 88:12 的丙酮和乙酸混合物;
- g) 过滤收集结晶颗粒并用约 88:12 的丙酮和乙酸混合物冲洗, 然后用水冲洗;
- 5 h) 将约 5 体积的水加到结晶颗粒中, 得到悬浮液;
- i) 用 3.5 摩尔当量的甲磺酸酸化悬浮液;
- j) 过滤收集悬浮的结晶颗粒, 将其装入充分搅拌的稀乙酸钠溶液中, 使其进行微结晶以形成平均粒径小于 190nm 的结晶; 及
- k) 过滤收集微结晶颗粒并用水冲洗, 然后用丙酮冲洗, 得到纯 3
- 10 - 氨基 - 1, 2, 4 - 苯并三嗪 1, 4 - 二氧化物。
6. 权利要求 5 的方法, 进一步包括干燥和匀化纯 3 - 氨基 - 1, 2, 4 - 苯并三嗪 1, 4 - 二氧化物。
7. 权利要求 5 的方法, 其中所说苯并呋咱 - 1 氧化物是加到约 60 °C 的所说氨基氟溶液中。

说明书

制备 3-氨基-1,2,4-苯并三嗪二氧化物的方法

发明背景

发明领域

本发明涉及用于系统给药治疗哺乳动物恶性肿瘤的高纯度 3-氨基-1,2,4-苯并三嗪二氧化物（此后有时称为 tirapazamine）的制备方法。

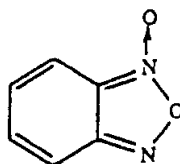
相关报道

Tirapazamine 是在美国专利 3,868,371 中报道的用作抗微生物剂的已知化合物，并在美国专利 3,957,779 中公开了其本身及其同族化合物用作饲养脂肪储存动物，如牛，猪和家禽生长促进剂。Tirapazamine 也是公开在 WO 91/04028（该说明书在此引作参考）用于哺乳动物抗恶性肿瘤有希望的药物。在系统使用 tirapazamine 中，重要的是化合物要高度纯化以获得所需的抗恶性肿瘤活性而没有因为在生产过程中化合物中可能残留杂质引起的副作用。

在 Angew. Chem. 84,1061 (1972) 和美国专利 3,868,371 中公开的制备 tirapazamine 化合物的方法如下。

$\text{Na}_2\text{N}\equiv\text{N}$

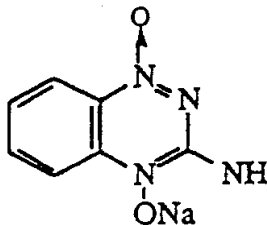
与



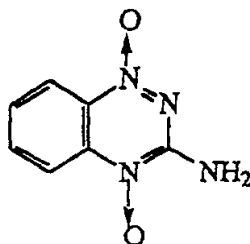
氮氨基二钠

苯并呋咱氧化物 (benzofuroxan)

在 $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}/\text{NaOH}$ 的存在下反应得到其二钠盐



将其用乙酸酸化形成 3-氨基-1,2,4-苯并三嗪 1,4-二氧化物



5

下面详细描述其制备方法。

在 20℃ 向 13.6g (0.1mol) 苯并呋咱氧化物的 40ml 甲醇和 40ml 水混合物的悬浮液中分批加入 17.2g (0.2mol) 氰氨基二钠。在添加过程中，温度升至 50℃ - 60℃，溶液呈蓝 - 紫色。在约 60℃ 再搅拌 40 分钟并
10 并通过过滤从母液中除去分离出的沉淀，保留母液并进一步处理。将沉淀溶解在水中，过滤溶液并用乙酸酸化滤液，然后分离出 12.5g 3-氨基-1,2,4-苯并三嗪-1,4-二-N-氧化物（理论值的 71%），为微红-金色结晶，熔点 220℃（分解）。用乙酸酸化母液后，又得到 3.2g（理论值的 18%）3-氨基-1,2,4-苯并三嗪，从二甲基甲酰胺中重结晶后，
15 其熔点为 220℃（分解）。总产率为：理论值的 89%。

现在已经发现了制备 3-氨基-1,2,4-苯并三嗪 1,4-二氧化物的改进方法。

发明概述

制备 3-氨基-1,2,4-苯并三嗪 1,4-二氧化物的方法包括以下步
20 骤：

- a) 将摩尔/体积比为 1:3 的苯并呋咱-1 氧化物溶解于二甲亚砆；
- b) 将摩尔/体积比为 3:2 的氰氨基二钠溶解反应烧瓶中的水中；
- c) 在约 55℃ - 65℃，优选约 60℃，将苯并呋咱-1 氧化物溶液加到氰氨基二钠溶液中，得到 3-氨基-1,2,4-苯并三嗪 1,4-二氧化
25 物钠盐的沉淀；
- d) 过滤除去沉淀；
- e) 将滤液悬浮在约体积比为 1:6 的水中；
- f) 将约 3.5 摩尔当量的甲磺酸加到悬浮滤液中得到一种溶液；
- g) 过滤滤液除去其中酸不溶杂质；
- h) 将滤液倒入含有过量乙酸钠的缓冲液中；
30
- i) 使其结晶且形成超过 90% 粒径小于 190nm 的结晶颗粒；
- j) 过滤并用水洗涤结晶颗粒；

k) 将洗涤过的结晶颗粒再装入所述反应烧瓶中并与约 5 体积的水搅拌; 及

l) 过滤结晶颗粒并用丙酮冲洗得到纯的 3-氨基-1,2,4-苯并三嗪 1,4-二氧化物。

5 可将纯化的产物在约 50°C - 60°C 干燥并用 No. 10 不锈钢筛过筛进行均化, 这时可用于固体口服药物制剂, 如软胶囊中。

在一个优选实例中, 制备 3-氨基-1,2,4-苯并三嗪 1,4-二氧化物的方法包括以下步骤:

10 a) 在约 55°C - 65°C, 将摩尔/体积比为 1:3 的苯并咪唑-1 氧化物的二甲亚砜溶液加到摩尔比为 3: 6 的氯氨基和氢氧化钠水溶液中, 得到 3-氨基-1,2,4-苯并三嗪 1,4-二氧化物钠盐为部分悬浮液/溶液;

b) 用体积比约为 1:6 的水稀释部分悬浮液/溶液得到含有碱不溶杂质的溶液;

c) 过滤溶液以除去碱不溶杂质;

15 d) 用稍微过量的冰醋酸中和溶液以得到粗的结晶混合物;

e) 冷却结晶混合物并过滤收集湿的滤饼固体;

f) 搅拌下, 加入约 88:12 的丙酮和乙酸混合物;

g) 过滤收集结晶颗粒并用约 88:12 的丙酮和乙酸混合物冲洗, 然后用水冲洗;

20 h) 将约 5 体积的水加到结晶颗粒中以得到悬浮液;

i) 用 3.5 摩尔当量比的甲磺酸酸化悬浮液;

j) 过滤收集悬浮的结晶颗粒, 将其装入充分搅拌的稀的乙酸钠溶液中, 使其进行微结晶以形成平均粒径小于 190nm 的结晶; 及

25 k) 过滤收集微结晶颗粒并用水冲洗, 然后用丙酮冲洗得到纯的 3-氨基-1,2,4-苯并三嗪 1,4-二氧化物。

可将纯产物在约 50 - 60°C 干燥, 然后将其通过 No. 10 不锈钢筛过筛进行均化, 这样其可用于固体口服药剂如用于软胶囊。如果发生凝结, 可在本发明方法中在装入软胶囊之前加入研磨步骤以保证微晶颗粒均匀。优选地, 研磨应采用低能复合研磨技术以避免高冲击和发热产生。

30 发明详述

Tirapazamine 是一种有效的细胞毒剂, 它表现为能够提高对恶性肿瘤中存在的缺氧细胞 (hypoxic cells) 的毒性和选择性。通过胃肠

外和固体口服药剂的给药都可以观察其效率。本发明的目的之一是提供适于固体口服制剂粒径的 tirapazamine, 而无需在合成 tirapazamine 后减小粒径。

为了得到用于这种药物制剂的高纯度 tirapazamine, 人们进行了广泛的研究以改进 Angew. Chem. 84, 1061 (1972) 和美国专利 3, 868, 371 中报道的方法和产物 (如下所述)。

多相反应条件

实施例 1

参考文献中所述方法经过实施例 1-4 变化后重述如下。

10 1 摩尔苯并咪唑-1 氧化物与 3 摩尔氯氨基二钠在 50% 甲醇水溶液中的多相反应将立即放热。根据上述参考文献所述, 优选的步骤是将苯并咪唑-1 氧化物和 2 摩尔氯氨基二钠悬浮于甲醇水溶液, 几分钟后在反应混合物中加入另一摩尔氯氨基二钠, 短时间后沉淀出为黑紫色油脂状固体的中间体钠盐。该潮湿的固体很难从常规反应烧瓶中转移, 而且
15 过滤速度很慢且不方便。将粗沉淀溶解于水并过滤, 除去不溶于碱的杂质。用乙酸酸化滤液, 分离得到的产物为橙色固体。将产物溶解于 80℃ 的约 10 倍体积的乙酸, 除非浓缩或用较少极性的溶剂稀释否则它很难结晶。

实施例 2

20 采用实施例 1 相同方法, 但中间体黑紫色油脂状固体不经过过滤就进行溶解和酸化。该方法回收率很高, 但用 TLC 测定其中含有一种杂质, 而且用色谱法很难除去。用快速色谱法分离出杂质, 经鉴定为吩嗪 1, 5-二-N-氧化物。该化合物是反应中最丰富的副产物, 而且由苯并咪唑-1 氧化物的自缩合反应产生。

实施例 3

25 按照实施例 1 方法, 但是用 2 摩尔苯并咪唑-1 氧化物与 6 摩尔氯氨基二钠反应, 得到粗产物。添加两种溶液后发生剧烈放热反应并伴随着放出气体。处理后产率降到 22%。

实施例 4

30 按照实施例 1 方法, 但是用 1.2 摩尔苯并咪唑-1 氧化物与 3.6 摩尔氯氨基二钠反应, 得到粗产物。取出沉淀的粗产物, 将其悬浮于水并加入 35% 氢氧化钠直到溶液形成。过滤溶液并用乙酸酸化, 得到结晶产

物。产物中含有吩噻的一-N-氧化物杂质，而且产物中还有只有在 85℃ 才能从乙酸中滤除的絮凝物。人们发现，细胞毒剂的热溶液操作步骤是一严重缺点。

为了消除文献所述方法及因此所得终产物中的缺点和不利性质，为了选择用来改进方法的最佳实验条件和试剂，进行了大量研究。

均匀反应条件

1. 溶剂

试剂的溶解性特征限制了均匀反应条件下进行实验的溶剂的选择。苯并呋咱-1 氧化物非常易于溶解于非极性溶剂如甲苯或乙酸乙酯，而在异丙醇或甲醇中的溶解性要差得多，但它非常容易溶解于极性非质子传递溶剂如二甲基甲酰胺，N-甲基吡咯烷酮或二甲亚砜 (DMSO)。室温下 1 摩尔苯并呋咱-1 氧化物很容易溶解于 3 倍体积的 DMSO 并吸收热量。

氰氨基二钠不溶于有机溶剂，但溶解于水，同时放热。3 摩尔氰氨基二钠可以溶解于 2 倍体积的水，得到与氢氧化钠平衡的氰氨基钠。

强碱性反应介质是选择适于苯并呋咱-1 氧化物溶剂的限制因素。人们多选择二甲亚砜而不是二甲基甲酰胺，因为前者被证实在强碱中更稳定。

2. 添加方式

正常的添加方式被定义为在过量氰氨基二钠水溶液中加入苯并呋咱-1 氧化物的 DMSO 溶液。在一个实验中，将氰氨基二钠水溶液加到苯并呋咱-1 氧化物的甲醇溶液中，发现产物的回收率较低，而且测出反应的主要副产物是吩噻一-N-氧化物。在过量苯并呋咱-1 氧化物存在的条件下，如相反的添加方式中，有助于形成与吩噻有关的副产物。

3. 化学计量

根据文献 (Angew. Chem. Int. Ed., Vol. 11 (1972) 1009) 和基于我们用多相反应条件进行的研究，tirapazamine 的制备要求每当量苯并呋咱-1 氧化物对应 3 当量氰氨基二钠。在均匀条件下 1 摩尔当量与 2 摩尔当量的反应实验中，起始苯并呋咱-1 氧化物的回收率为 26%。氰氨基钠水溶液的热稳定性是已知的，但也知道升高温度会水解成氰盐和释放氨。还知道氰氨基会聚合成二聚体类和不溶于水的三聚体蜜胺。

几个均匀反应用氰氨基和苯并呋咱-1 氧化物在 DMSO 和水中进行。产物的形成与用氰氨基二钠是可比较的, 但只是在用 3 摩尔氰氨基和 6 摩尔氢氧化钠时。

4. 温度

5 在标准反应条件下, 在室温将苯并呋咱-1 氧化物的 DMSO 溶液加到氰氨基二钠水溶液中。添加过程中保持氰氨基二钠溶液温度在 55-60℃ 之间产物的产率最佳。在此温度下反应迅速进行, 而且观察不到明显放热。在保持温度为 34-40℃ 的实验中, 起始苯并呋咱-1 氧化物的回收率为 40%。该实验和在最佳反应温度显示重现性的其他实验的细节示于
10 表 1。

表 1

编 码	摩尔数 A*	摩尔数 B*	反应温度	粗产率	原料回收率
1736-051	1	3	34-40_	38%	40%
1736-049	1	3	60-95_	48%	-
1736-054	0.1	0.2	58-60_	31%	29%
1736-052	1	3	55-60_	65%	-
1736-057	1	3	58-62_	65%	-
1736-061	1	3	56-58_	56%	-

A* = 苯并呋咱-1 氧化物

15 B* = 氰氨基二钠

5. 溶剂的比例

多数实验在约 1:1 的 DMSO/水中进行。在一个 DMSO/水比例为 1:2 的实验中, 原料苯并呋咱-1 氧化物的回收率稍高, 而 tirapazamine 的
20 产率相应降低。多数反应在相对苯并呋咱-1 氧化物 7:1 体积比重量的比例下进行。

如果用溶剂如异丙醇或 THF 代替 DMSO, 即使延长加热时间也会得到大量起始原料。

6. 结晶

25 粗 tirapazamine 的纯化是将粗 tirapazamine 溶解于 80-90℃ 9

倍体积的乙酸，然后过滤混合物除去不溶性杂质，并在 60℃ 和适当真空条件下将滤液浓缩到原体积的一半。避免从乙酸或乙酸溶液中结晶终究会导致出现絮凝物。没有对絮凝物进行鉴定。对絮凝溶液的过滤只在滤纸上得到斑渍，并且少量固体不足以用普通分光镜法分析其特性。

5 为了避免蒸馏步骤，可以在 106℃ 由 6 倍体积乙酸制备更浓的溶液。尽管这样可行，但它具有潜在的隐患。

制备含有 9g tirapazamine 的 50mL 水悬浮液，并选取三种酸（甲磺酸，硫酸和盐酸）以检测它们各自的溶解性。显然，甲磺酸溶液最可取，而且用氢氧化钠中和之后可以分离出游离碱。这种方法产生的晶体的
10 的粒径经检测发现，它不符合 $90\% < 190\text{nm}$ 的指标要求。

用氢氧化钠进行中和反应产生放热阻碍了迅速加入，而迅速加入被认为对生成所需尺寸的晶体是必要的。这个问题可以通过骤冷酸溶液成为冷乙酸钠缓冲液来解决，该缓冲液调节放热过程和允许快速加入。用此方法得到的晶体符合粒径指标。回收率和用 TLC 和 HPLC 初步检测结果说明杂质的情况非常类似于从乙酸得到那种情况。更重要的是，在放置
15 过夜的乙酸溶液中没有发现有絮凝物存在。

用通过研究得到的均匀反应参数，制备 tirapazamine，如实施例 5 所述。

实施例 5

20 我们进行了 7 种反应，其规模分别为 1, 2 和 3 摩尔苯并呋咱-1 氧化物对应 3, 6 和 9 摩尔氯氨基二钠，结果示于表 2。

将摩尔/体积比为 1:3 的苯并呋咱-1 氧化物的二甲亚砜溶液加到约 60℃ 的盛有 3:2 摩尔/体积比氯氨基二钠的水溶液的反应容器中。添加时间 8 - 34 分钟不等。添加完成后几分钟产生产品的钠盐沉淀。将过滤得到的
25 沉淀悬浮于体积比约为 1:6 的水中。该悬浮液中含有不溶于碱的物质，因此过滤除去沉淀。室温下向悬浮液中加入约 3.5 摩尔当量的甲磺酸。温度升至约 45℃，过滤该温溶液除去不溶于酸的杂质。将滤液倒入含有过量乙酸钠的缓冲液，迅速产生结晶并有 90% 晶体的尺寸小于 190nm。滤出结晶颗粒，用水充分洗涤。将湿饼状晶粒放回到反应容器，并与约
30 5 倍体积的水一起搅拌。洗涤后滤出固体，用丙酮漂洗，得到纯 tirapazamine。将纯 tirapazamine 在 50-60℃ 干燥 3 天。经过 No.10 不锈钢筛筛选得到均匀的干燥固体。

产率和分析结果示于表 2.

表 2

编码	摩尔数 A*	摩尔数 B*	回收的 粗产物	产率	ETI	LOD	分析结果
1736-077	1	3	123 g	69%	0.18	2.6	92.7%
1736-078	2	6	241 g	68%	0.15	3.2	94.5%
1736-080	2	6	224 g	63%	0.14	5.4	98.5%
1736-082	2	6	247 g	69%	0.92	5.5	93.1%
1736-084	2	6	246 g	69%	0.79	8.2	91.8%
1736-086	3	9	318 g	60%	0.82	2.3	92.4%
1736-088*	1	3	116 g	65%	0.91	0.7	96.2%

A* = 苯并呋咱 - 1 氧化物的摩尔数

B* = 氯氨基二钠的摩尔数

我们用这种方法成功地重复了 4 和 15 摩尔规模的反应, 得到了公斤量级的纯 tirapazamine. 该方法符合安全性和可重复性要求. 这样得到的纳米大小晶体产物符合用于治疗恶性肿瘤的固体口服药剂的尺寸要求.

本发明优选方案的方法示于实施例 6 和 7.

实施例 6

在 20-30℃ 向含有约 6 摩尔氢氧化钠水溶液中加入约 3 摩尔氯氨基. 将混合物在室温搅拌约 1 小时, 然后加温至约 60℃. 用 10-20 分钟将含有 1 摩尔 (计算的干重量) 苯并呋咱 - 1 氧化物的二甲亚砷溶液加到碱性氯氨基混合物中. 添加结束时通过冷却使放热反应保持在 75℃ 以下. 在 45℃ 用去离子水稀释混合物, 过滤除去不溶性副产物. 合并的滤液和洗液用冰醋酸酸化. 冷却结晶混合物, 过滤收集固体. 滤饼用去离子水漂洗, 潮湿的固体被放入干净的反应容器.

潮湿的固体用比例约为 88:12 的丙酮和乙酸混合物稀释. 将混合物在室温搅拌约 30 分钟, 过滤收集固体. 先后用丙酮和乙酸溶液 (88: 12) 和去离子水漂洗滤饼. 将湿饼送到干净的反应容器中.

最后的纯化

用去离子水稀释潮湿的固体，并用稀甲磺酸酸化悬浮液。用活性炭处理混合物，并将其在约 45℃ 搅拌几分钟。重复加温过滤混合物和活性炭处理一次。过滤后将温滤液倒入充分搅拌的稀乙酸钠冷溶液。过滤收集固体，先后用去离子水和丙酮漂洗滤饼。在约 55℃ 真空干燥晶状固体，
5 得到纯产物。

总产率约为理论值的 40-50%。

实施例 7

本实施例叙述了大批量生产 1,2,4-苯并三嗪-3-氨基 1,4-二氧化物的方法。

10 在一个 50 加仑反应器(K-7)中通入氮气并放入 17.9L 去离子水和 11.9kg (297 摩尔)氢氧化钠珠粒。用冷却方法控制放热。搅拌混合物直到成为清澈溶液，然后冷却到 15-25℃。在溶液中加入 6.3kg (150 摩尔)氨基氰，并在 20-30℃ 搅拌 1 小时。同时，在另一个釜(K-5)中装入 7.4kg 湿苯并呋咱-1 氧化物(计算的干重量为 7.0kg (50 摩尔))
15 和 25.5kg 二甲亚砜。将混合物加温至 20-30℃ 并搅拌 50 分钟。

将氨基氰溶液(K-7)加温至 60℃。用约 20 分钟将苯并呋咱-1 氧化物(K-5)经顺装的筒形过滤器送到氨基氰溶液中。冷却的同时搅拌反应混合物 20 分钟，且反应温度不超过 71℃。缓慢加入去离子水(50L)，将混合物冷却到 44℃，并经过顺装的筒形过滤器除去不溶的副产物，过滤器将滤液排到一个 50 加仑的反应器(K-8)中。加入 19.9kg (332 摩尔)
20 乙酸酸化滤液。将混合物冷却到 22℃ 并继续搅拌 1 小时。过滤收集固体。用 17.3L 去离子水清洗反应器(K-8)，并加于滤饼。将湿滤饼放入一个 50 加仑的反应器(K-8)。

将制成的含有 34.9kg 丙酮和 6.0kg 乙酸的溶液倒入装有粗固体的
25 K-8。将混合物在 25℃ 搅拌 3 小时，然后过滤收集固体。用含有 10.4kg 丙酮和 1.8kg 乙酸的溶液漂洗滤饼。在反应器(K-8)中加入 15.0L 去离子水用来冲洗滤饼。该粗湿滤饼用于最后的纯化过程。

在一个 50 加仑反应器(K-8)中装入 11.6kg (141.5 摩尔)无水乙酸钠和 61.5L 去离子水。搅拌混合物并将清溶液冷却到 10-20℃。

30 同时，在一个 30 加仑反应器(K-11)中通入氮气并装入 35.9L 去离子水和 7.7kg 粗湿 tirapazamine。搅拌悬浮液 20 分钟，并用几分钟时间加入 10.0kg (102 摩尔)甲磺酸。将温度调节到 40-45℃，在深色溶

液中加入 0.2kg 活性炭和 0.2kg solka 絮凝物。经过在顺装的过滤器中循环，除去混合物中的固体。将上述活性炭和 solka 絮凝物步骤再重复一次。滤液经抛光的过滤器循环迅速充到冷乙酸钠溶液(K-8)中。冷却的同时搅拌混合物约 1.5 小时，然后在 10℃ 过滤收集固体。在反应器(K-8) 5 中加入去离子水(34kg)用来冲洗滤饼。最后，用 17.9kg 丙酮漂洗滤饼，在 55 - 60℃ 真空干燥 43 小时。纯产物的重量是 3.41kg(理论产率的 37.2 %)。

根据优选实例对本发明的说明，本领域技术人员显然可以理解属于本发明范围的变化方法。