



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101940552 B

(45) 授权公告日 2012. 02. 08

(21) 申请号 201010292374. 7

(22) 申请日 2008. 09. 16

(62) 分案原申请数据

200810212048. 3 2008. 09. 16

(73) 专利权人 倪健

地址 100102 北京市望京中环南路 6 号北京
中医药大学中药学院

(72) 发明人 倪健 孙建宁 郭亚建

(74) 专利代理机构 北京市浩天知识产权代理事
务所 11276

代理人 刘云贵

(56) 对比文件

CN 1163104 A, 1997. 10. 29, 全文.

CN 1442415 A, 2003. 09. 17, 全文.

审查员 李风云

(51) Int. Cl.

A61K 9/14 (2006. 01)

A61K 9/19 (2006. 01)

A61K 31/357 (2006. 01)

A61P 7/02 (2006. 01)

A61P 9/10 (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 26 页

(54) 发明名称

中药莽草酸粉针剂

(57) 摘要

本发明公开了一种中药莽草酸的粉针剂, 由如下方法制备: 3, 4-0- 异亚丙基莽草酸 10 重量份, 加注射用水溶解, 加入氢氧化钠、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠, 110-140℃ 压力条件为 0. 2-1. 4kg/cm² 灭菌 20-50 分钟, 微孔滤膜过滤后超滤, 超滤液冷冻干燥制的; 本发明解决了 3, 4-0- 异亚丙基莽草酸制备成粉针剂的稳定性问题, 更节约了生产成本, 也避免因骨架材料的使用所可能导致的安全性问题。

1. 一种中药莽草酸的粉针剂,其特征在于由如下重量比的原料制成:
3,4-0- 异亚丙基莽草酸 10 重量份、氢氧化钠 2-5 重量份、磷酸二氢钠 7-10 重量份、磷酸氢二钠 3-6 重量份注射用水 100-1000 重量份。
2. 如权利要求 1 所述的粉针剂,其特征在于由如下重量比的原料制成:
3,4-0- 异亚丙基莽草酸 10 重量份氢氧化钠 2.37 重量份磷酸二氢钠 8.44 重量份磷酸氢二钠 4.6 重量份注射用水 300-900 重量份。
3. 如权利要求 1 或 2 所述的粉针剂的制备方法,其特征在于该方法为:
取 3,4-0- 异亚丙基莽草酸 10 重量份,加注射用水溶解,按组方量加入氢氧化钠、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠,110-140℃压力条件为 0.2-1.4kg/cm² 灭菌 20-50 分钟,微孔滤膜过滤后超滤,超滤液冷冻干燥。
4. 如权利要求 3 所述的粉针剂的制备方法,其特征在于该制备方法中灭菌条件为:121℃、压力为 0.7kg/cm²,灭菌 30 分钟。
5. 如权利要求 3 所述的粉针剂的制备方法,其特征在于该方法中冷冻干燥的方法为:在冷冻干燥箱中,冻至 -35℃ 以下,保温 3 小时;开启真空泵,进入升华阶段,升华的最高温度控制在 -14℃ 以下;待冰晶完全消失后,转入干燥阶段,最高温度不超过 35℃。
6. 如权利要求 5 所述的粉针剂的制备方法,其特征在于干燥温度为 30℃。
7. 3,4-0- 异亚丙基莽草酸的粉针剂的制备方法,其特征在于该方法包括如下步骤:
取 3,4-0- 异亚丙基莽草酸 10 重量份,加注射用水 100-1000 重量份溶解,调节 pH 值 5-7,在温度条件为 110-140℃、压力条件为:0.2-1.4kg/cm² 灭菌 20-50 分钟,微孔滤膜过滤后超滤,超滤液冷冻干燥。
8. 如权利要求 7 所述的粉针剂的制备方法,其特征在于该制备方法中灭菌条件为:121℃、压力为 0.7kg/cm²,灭菌 30 分钟。

中药莽草酸粉针剂

[0001] 本申请是申请日为 2008 年 9 月 16 日,申请号为 200810212048.3,发明名称为“异亚丙基莽草酸粉针剂”的发明专利申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及一种中药的粉针剂,特别涉及中药莽草酸的粉针剂及其制备方法。

背景技术

[0003] 莽草酸(Shikmic acid, SA-1,),为中草药木兰科八角属多种植物果实中含有的药效成分,其来源由八角科多蕊红茴香 *Illicium henrvivar. multistamineum* 的果实及角属其它植物的成熟果实经甲醇等溶剂提取,精制而成。其分子式为 $C_7H_{10}O_5$, 分子量为 174.15。近年来,对血栓形成机制的研究及抗血栓药物的开发深受各国医药界的关注,并已有部分有效化合物处于临床和临床前研究阶段。

[0004] 异亚丙基莽草酸(3,4-oxo-isopropylidene-shikimic acid, ISA) 是从中药木兰科植物八角茴香(*Fructus Anisi stellati*)中提取的有效成分莽草酸的活性衍生物之一,中文名:3,4-0-异亚丙基莽草酸,分子式及分子量: $C_{10}H_{14}O_5$, 214, 化学名:3,4-0-异亚丙基莽草酸英文化学名:3,4-oxo-isopropylidene-shikimic acid。异亚丙基莽草酸用于治疗脑血栓、脑梗塞及抗血栓。

[0005] 异亚丙基莽草酸主要用于血栓性疾病的治疗,在血栓性疾病的治疗中,采用非血管给药存在着吸收等过程,使得进入血液的药物浓度降低,加之异亚丙基莽草酸不稳定,故在制备口服制剂时,还存在着在胃中易分解的问题。由于异亚丙基莽草酸不稳定的特点,制备注射制剂存在更大的困难。

发明内容

[0006] 本发明一个目的在于公开一种具有高稳定性的 3,4-0-异亚丙基莽草酸的粉针剂。

[0007] 本发明另一个目的在于公开一种具有高稳定性的 3,4-0-异亚丙基莽草酸的粉针剂的制备方法。

[0008] 本发明第一个目的是通过如下技术方案实现的:

[0009] 一种 3,4-0-异亚丙基莽草酸的粉针剂,由如下重量比的原料及注射用水制成:

[0010] 3,4-0-异亚丙基莽草酸 10 重量份 氢氧化钠 2-5 重量份

[0011] 磷酸二氢钠 7-10 重量份 磷酸氢二钠 3-6 重量份

[0012] 注射用水 100-1000 重量份。

[0013] 所述 3,4-0-异亚丙基莽草酸的粉针剂由如下优选重量比的原料制成:

[0014] 3,4-0-异亚丙基莽草酸 10 重量份 氢氧化钠 2.37 重量份

[0015] 磷酸二氢钠 8.44 重量份 磷酸氢二钠 4.6 重量份

[0016] 注射用水 300-900 重量份。

[0017] 本发明所述的 3,4-0- 异亚丙基莽草酸的粉针剂,是由如下方法制备的:

[0018] 取 3,4-0- 异亚丙基莽草酸 10 重量份,加注射用水溶解,按组方量加入氢氧化钠、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠,110-140℃压力条件为 0.2-1.4kg/cm² 灭菌 20-50 分钟,微孔滤膜过滤后超滤,超滤液冷冻干燥。

[0019] 所述灭菌条件优选:121℃热压 (0.7kg/cm²),30 分钟;

[0020] 所述冷冻干燥的方法为:在冷冻干燥箱中,冻至 -35℃以下,保温 3 小时;开启真空泵,进入升华阶段,升华的最高温度控制在 -14℃以下;待冰晶完全消失后,转入干燥阶段,最高温度不超过 35℃。其中干燥温度最佳为 30℃。

[0021] 本发明第二个目的是通过如下技术方案实现的:

[0022] 一种具有高稳定性的 3,4-0- 异亚丙基莽草酸的粉针剂的制备方法,该方法包括如下步骤:

[0023] 取 3,4-0- 异亚丙基莽草酸 10 重量份,加注射用水 100-1000 重量份溶解,调节 pH 值 5 以上,在温度条件为 110-140℃、压力条件为:0.2-1.4kg/cm² 灭菌 20-50 分钟,微孔滤膜过滤后超滤,超滤液冷冻干燥。

[0024] 所述 pH 值优选 5-8;pH 值最优选 7;

[0025] 所述灭菌条件优选 121℃热压 (0.7kg/cm²),30 分钟;

[0026] 所述冷冻干燥的方法为:在冷冻干燥箱中,冻至 -35℃以下,保温 3 小时;开启真空泵,进入升华阶段,升华的最高温度控制在 -14℃以下;待冰晶完全消失后,转入干燥阶段,最高温度不超过 35℃。其中干燥温度最佳为 30℃。

[0027] 调节 pH 值可以采用常规的加入碱进行调节,如加入氢氧化钠 2-5 重量份,也可以采用加入碱与缓冲盐;其中缓冲盐选自:氢氧化钠-磷酸二氢钠;磷酸氢二钠-磷酸二氢钠;三羟甲基氨基甲烷缓冲液;巴比妥缓冲液、巴比妥-氯化钠缓冲液、氨-氯化铵缓冲液、硼砂-氯化钙缓冲液、磷酸二氢钾-氢氧化钠、磷酸氢二钠-磷酸二氢钾、磷酸二氢钾-磷酸氢二钾。优选磷酸氢二钠-磷酸二氢钠 (pH7) 作为缓冲剂。其中缓冲盐用量可以通过渗透压原理计算得出,例如使用 FM28 型全自动冰点渗透压计(上海医科大学仪器厂),精称 100mg 抗栓素,加入 1mol·ml⁻¹NaOH 590 μl 调节 pH 值为 7,加入不同体积的 pH 值 7 的 0.2mol·L 的磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液,以水定容至 10ml;按照中国药典 2005 年二部附录 IXG,采用渗透压摩尔浓度测定法,分别测定不同浓度缓冲液的抗栓素溶液的渗透压;以缓冲液加入量对渗透压作图,拟合方程为: $y = 39.13x + 99.481$, $|r| = 0.9991$,经测定,0.9%氯化钠注射液的渗透压为 280mmol·L⁻¹,计算调节等渗需要加入的缓冲盐体积为 4.61ml。

[0028] 所述 3,4-0- 异亚丙基莽草酸的合成可以根据专利号:ZL02130773.3 发明名称为一种 ISA 的制备方法及其新用途所记载的方法制备。本发明中所述抗栓素即为 3,4-0- 异亚丙基莽草酸。

[0029] 实验研究表明 3,4-0- 异亚丙基莽草酸在水溶液中不稳定,莽草酸衍生物在制备粉针剂的过程中,一直以来困扰的问题是解决活性成分的稳定性问题。本发明技术方案 1 通过特定比例的原料,控制了 3,4-0- 异亚丙基莽草酸溶液 Ph 值在 5 以上,同本发明第二个技术方案都有效解决了 3,4-0- 异亚丙基莽草酸制备成粉针剂的稳定性问题。同时意想不到的发现不使用任何注射剂骨架材料,3,4-0- 异亚丙基莽草酸仍然符合粉针剂的制剂要

求,从而更节约了生产成本,也避免因骨架材料的使用所可能导致的安全性问题。

[0030] 下述实施例均能实现上述实验例所述的效果。

[0031] 实验例 1 不同 pH 值条件下 3,4-O- 异亚丙基莽草酸溶液稳定性实验

[0032] (一) 实验方法

[0033] 1、原理:在药物稳定性试验中,不仅要考虑 H^+ 或 OH^- 的专属酸碱催化,还要考虑缓冲液组成,即一般酸碱催化对药物水解速率的影响。这两种催化类型结合可以将表观水解速率 K_{obs} 描述如下:

$$[0034] \quad K_{obs} = K_o + K_{H^+}[H^+] + K_{OH^-}[OH^-] + K_{HX}[HX] + K_{X^-}[X^-] \quad (1-1)$$

[0035] 式中, K_{obs} 是实验测得的表观水解速率常数; K_o 是无催化作用时的(或溶剂催化)速率常数; K_{H^+} 和 K_{OH^-} 分别是专属酸、碱催化速率常数; K_{HX} 和 K_{X^-} 是一般酸、碱催化速率常数; $[HX]$ 和 $[X^-]$ 是质子化和为质子化缓冲液浓度。为了完全评估药物稳定性,消除缓冲液的影响,测定在每个 pH 值下不同缓冲液中的水解速率常数 K ,以水解速率常数 K 对缓冲液浓度作图,将曲线外推至缓冲液浓度为 0,求出此时的水解速率常数 K ,再将这些外推得到的速率绘制成 pH 值的函数,就得到了消除缓冲液影响的 pH- 速率曲线图。

[0036] 2、实验溶液配制方法

[0037] 各个 pH 值条件下缓冲液的配制方法

[0038]

pH 值	缓冲液组成
0	1mol · L ⁻¹ HCl
1	0.1mol · L ⁻¹ HCl
2	0.1mol · L ⁻¹ HCl11.9ml, 0.2mol · L ⁻¹ KCl144.05ml 加水定容至 100ml
3	0.1mol · L ⁻¹ 柠檬酸—0.1 mol · L ⁻¹ 柠檬酸钠 18.6: 1.4
4	0.1mol · L ⁻¹ 柠檬酸—0.1 mol · L ⁻¹ 柠檬酸钠 7.71: 12.29
5	0.1mol · L ⁻¹ 柠檬酸—0.1 mol · L ⁻¹ 柠檬酸钠 10.30: 9.70

[0039] 各 pH 值下稳定性实验用样品的配制方法

[0040]

pH 值	稳定性实验用样品的配制方法
0	抗栓素以 $1\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}\text{HCl}$ 配制成 $10\text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的溶液;
1	抗栓素以 $0.1\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}\text{HCl}$ 配制成 $10\text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的溶液;
2	精称 100mg 抗栓素加入 $1\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}\text{HCl}$ $100\ \mu\text{l}$, 加入不同体积的 pH 值 2 的缓冲液, 以水定容至 10ml;
3	精称 100mg 抗栓素, 加入 $1\text{mol} \cdot \text{ml}^{-1}\text{NaOH}$ $5\ \mu\text{l}$, 加入不同体积的 pH 值 3 的缓冲液, 以水定容至 10ml;
4	精称 100mg 抗栓素, 加入 $1\text{mol} \cdot \text{ml}^{-1}\text{NaOH}$ $350\ \mu\text{l}$, 加入不同体积的 pH 值 4 的缓冲液, 以水定容至 10ml;
5	精称 100mg 抗栓素, 加入 $1\text{mol} \cdot \text{ml}^{-1}\text{NaOH}$ $535\ \mu\text{l}$, 加入不同体积的 pH 值 5 的缓冲液, 以水定容至 10ml;

[0041] (二) 各实验条件下的试验数据与结果

[0042] 1. pH = 0, 25°C 条件下抗栓素稳定性试验数据与结果

[0043] pH = 0, 25°C 条件下的溶液中抗栓素表观水解速率常数测定结果

[0044]	取样时间	含量 C	对数浓度	回归结果
	T (min)	($\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$)	logC	
	0	10.0600	1.0026	$y = -0.2126x + 1.0026$ ($ r = 1$)
[0045]	5	0.8702	-0.0604	
	10	未检出	—	

[0046] 经测定, 样品配制后 10 分钟, 已经基本分解完毕。由两点回归得回归方程: $y = -0.2126x + 1.0026$, 相关系数 $|r| = 1$, 计算降解速率常数

[0047]

$$K_{25^\circ\text{C}}^{\text{pH}0} = 0.4896\ (\text{min}^{-1})$$

[0048] 2. pH = 1, 25°C 的条件下抗栓素稳定性试验数据与结果

[0049] pH = 1, 25°C 的条件下抗栓素表观水解速率常数测定结果

	取样时间 T (min)	含量 C (mg · ml ⁻¹)	对数浓度 logC	回归结果
[0050]	20	8.3521	0.9218	y = -0.0055x + 1.0302 (r = 0.9997)
	30	7.3212	0.8646	
	40	6.4781	0.8114	
	50	5.7179	0.7572	
	60	4.9917	0.6982	

[0051] 3. pH = 2, t = 25°C 的条件下抗栓素稳定性试验数据与结果

[0052] pH = 2 t = 25°C 不同浓度缓冲液中抗栓素表观水解速率常数测定结果

	缓冲液浓度 B _r (mol · L ⁻¹)	取样时间 T (h)	含量 C (mg · ml ⁻¹)	对数浓度 logC	回归结果
[0053]	0.02	0	10.0876	1.0038	y = -0.0197x + 1.0107 (r = 0.9920)
		2	9.4217	0.9741	
		4	8.8015	0.9446	
		6	7.7106	0.8871	
		8	7.0884	0.8505	
[0054]	0.04	0	10.1470	1.0063	y = -0.0242x + 0.9964 (r = 0.9932)
		4	7.6966	0.8863	

	6	7.0697	0.8494	
	8	6.2386	0.7951	
	10	5.8358	0.7661	
	0	9.6877	0.9862	
0.06	1	8.9515	0.9519	$y = -0.0307x + 0.9844$ $(r = 0.9897)$
	2	8.4688	0.9278	
	3	7.6070	0.8812	
	4	7.3836	0.8683	
	0	10.1470	1.0063	
0.08	2	8.4698	0.9279	$y = -0.0382x + 1.0023$ $(r = 0.9980)$
	4	6.8551	0.8360	
	6	5.9918	0.7776	
	8	5.0061	0.6995	
	0	9.4894	0.9772	
0.10	1	8.7375	0.9414	$y = -0.0445x + 0.982$ $(r = 0.9985)$
	2	7.8887	0.8970	
	3	7.0389	0.8475	
	4	6.3329	0.8016	

[0055] pH = 2 t = 25℃时不同浓度缓冲液中抗栓素表观水解速率常数

	缓冲液浓度 B_T (mol · L ⁻¹)	斜率	K (h ⁻¹)	回归结果
	0.02	-0.0197	0.0454	
[0056]	0.04	-0.0242	0.0557	$y = 0.7324x + 0.0285$ $(r = 0.997)$
	0.06	-0.0307	0.0707	
	0.08	-0.0382	0.0880	
	0.10	-0.0445	0.1025	

[0057] 4. pH = 3, 不同温度下抗栓素稳定性试验数据与结果

[0058] (1) pH = 3, t = 85℃的条件下抗栓素的稳定性试验

[0059] pH = 3 t = 85℃不同浓度缓冲液中抗栓素表观水解速率常数测定结果

[0060]

缓冲液浓度 B_r ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	取样时间 T (min)	含量 C ($\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$)	对数浓度 logC	回归结果
0.02	0	10.3521	1.0150	$y = -0.0294x + 1.015$
	10	5.2653	0.7214	($ r = 1$)
0.04	0	10.0665	1.0029	$y = -0.0363x + 1.0029$
	12	3.6883	0.5668	($ r = 1$)
0.08	0	10.4254	1.0181	$y = -0.0667x + 1.0181$
	12	1.6515	0.2179	($ r = 1$)
0.10	0	10.2125	1.0091	$y = -0.0854x + 1.0091$
	10	1.4297	0.1553	($ r = 1$)

[0061] pH = 3 t = 85°C时不同浓度缓冲液中抗栓素表观水解速率常数

缓冲液浓度 B_r ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	斜率	K (min^{-1})	回归结果
0.02	-0.0294	0.0677	
0.04	-0.0363	0.0836	$y = 1.6397x + 0.027$
0.08	-0.0667	0.1536	($ r = 0.9910$)
0.10	-0.0854	0.1967	

[0063] (2) pH = 3, t = 70°C的条件下抗栓素的稳定性试验

[0064] pH = 3 t = 70°C不同浓度缓冲液中抗栓素表观水解速率常数测定结果

缓冲液浓度 B_r ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	取样时间 T (min)	含量 C ($\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$)	对数浓度 logC	回归结果
0.02	0	10.3740	1.0159	
	5	7.8257	0.8935	$y = -0.02x + 1.0102$
	10	6.6897	0.8254	($ r = 0.9943$)
	15	5.0646	0.7045	
0.06	0	10.4254	1.0181	$y = -0.0228x + 1.0112$
	5	7.5142	0.8759	($ r = 0.9919$)
	10	6.3926	0.8057	
	15	4.5936	0.6622	
[0065] 0.08	0	10.0665	1.0029	
	5	8.0284	0.9046	$y = -0.0237x + 1.0033$
	10	5.4677	0.7378	($ r = 0.9954$)
	15	4.4518	0.6485	
	20	3.4597	0.5390	
0.10	0	10.2125	1.0091	
	5	7.7538	0.8895	$y = -0.0245x + 1.0184$
	10	6.1687	0.7902	($ r = 0.9954$)
	15	4.6911	0.6713	
	20	3.1963	0.5046	
[0066]	pH = 3 t = 70°C时不同浓度缓冲液中抗栓素表观水解速率常数			

	缓冲液浓度 B_T ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	斜率	K (min^{-1})	回归结果
[0067]	0.020	-0.0200	0.0461	
	0.060	-0.0228	0.0525	$y = 0.1309x + 0.0439$
	0.080	-0.0237	0.0546	($ r = 0.9906$)
	0.100	-0.0245	0.0564	

[0068] (3) $\text{pH} = 3$, $t = 55^\circ\text{C}$ 的条件下抗栓素的稳定性试验

[0069] $\text{pH} = 3$ $t = 55^\circ\text{C}$ 不同浓度缓冲液中抗栓素表观水解速率常数测定结果

	缓冲液浓度 B_T ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	取样时间 T (h)	含量 C ($\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$)	对数浓度 $\log C$	回归结果
[0070]	0.02	0	10.0897	1.0039	
		0.5	7.0130	0.8459	$y = -0.3103x + 0.9995$
		0.75	5.6728	0.7538	($ r = 0.9984$)
		1.25	4.1589	0.6190	
		0	10.3740	1.0159	
[0071]	0.04	0.25	8.3704	0.9227	$y = -0.3162x + 1.00$
		0.5	7.1561	0.8547	($ r = 0.9992$)
		0.75	5.8657	0.7683	
		1.25	4.1433	0.6173	
		0	10.4469	1.0190	$y = -0.3331x + 1.0086$
[0071]	0.08	0.25	8.3167	0.9199	($ r = 0.9973$)
		0.5	6.7826	0.8314	
		0.75	5.6775	0.7542	
		0.75	5.6775	0.7542	

	1	4.8473	0.6855	
	0	10.2350	1.0101	
	0.25	8.4438	0.9265	$y = -0.3451x + 1.009$
0.10	0.5	6.7614	0.8300	$(r = 0.9994)$
	0.75	5.5849	0.7470	
	1	4.6605	0.6684	

[0072] pH = 3 t = 55°C时不同浓度缓冲液中抗栓素表观水解速率常数

	缓冲液浓度 B_T (mol · L ⁻¹)	斜率	K (h ⁻¹)	回归结果
	0.020	-0.3103	0.7146	
[0073]	0.040	-0.3162	0.7282	$y = 0.996x + 0.6914$
	0.080	-0.3331	0.7671	$(r = 0.9938)$
	0.100	-0.3451	0.7948	

[0074] (4) pH = 3, t = 40°C的条件下抗栓素的稳定性试验

[0075] pH = 3 t = 40°C不同浓度缓冲液中抗栓素表观水解速率常数测定结果

	缓冲液浓度 B_T (mol · L ⁻¹)	取样时间 T (h)	含量 C (mg · ml ⁻¹)	对数浓度 logC	回归结果
		0.5	9.0249	0.9554	
[0076]		1	8.8187	0.9454	$y = -0.0514x + 0.9871$
	0.02	2	7.5503	0.8780	$(r = 0.9923)$
		2.5	7.2686	0.8614	
		3	6.7953	0.8322	

		0.5	9.1353	0.9607	
		1	8.8296	0.9459	$y = -0.0551x + 0.9935$
	0.04	1.5	8.1178	0.9094	$(r = 0.9942)$
		2	7.6497	0.8836	
		2.5	7.1457	0.8540	
		0	10.4469	1.0190	
		0.5	9.8384	0.9929	$y = -0.0654x + 1.0219$
[0077]	0.08	1	9.0035	0.9544	$(r = 0.9972)$
		1.5	8.4825	0.9285	
		2	7.7229	0.8878	
		0	10.2350	1.0101	
		0.5	9.6344	0.9838	$y = -0.0705x + 1.0129$
	0.10	1	8.7284	0.9409	$(r = 0.9968)$
		1.5	7.9855	0.9023	
		2	7.4912	0.8745	
[0078]	pH = 3 t = 40°C时不同浓度缓冲液中抗栓素表观水解速率常数				

	缓冲液浓度 B_T (mol · L ⁻¹)	斜率	K (h ⁻¹)	回归结果
	0.020	-0.0514	0.1184	
[0079]	0.040	-0.0551	0.1269	$y = 0.5585x + 0.1061$
	0.080	-0.0654	0.1506	$(r = 0.9985)$
	0.100	-0.0705	0.1624	

[0080] pH = 3 t = 40°C时缓冲液浓度对抗栓素表观水解速率影响

[0081] 5. pH4 的缓冲液中抗栓素稳定性试验

[0082] (1) pH = 4, t = 85°C 的条件下抗栓素的稳定性试验

[0083] pH = 4 t = 85°C 不同浓度缓冲液中抗栓素表观水解速率常数测定结果

缓冲液浓度 B_T (mol · L ⁻¹)	取样时间 T (h)	含量 C (mg · ml ⁻¹)	对数浓度 logC	回归结果
0.01	0	10.2245	1.0096	y = -0.2839x + 0.9989 (r = 0.9986)
	0.5	7.1553	0.8546	
	1	5.0168	0.7004	
	1.5	3.6776	0.5656	
	2	2.7817	0.4443	
0.03	0	10.2758	1.0118	y = -0.3305x + 0.9958 (r = 0.9980)
	0.5	6.6858	0.8252	
	1	4.3712	0.6406	
	1.5	3.1728	0.5014	
	2	2.2256	0.3475	
[0084] 0.05	0	10.2449	1.0105	y = -0.3722x + 0.9967 (r = 0.9984)
	0.5	6.4512	0.8096	
	1	3.9773	0.5996	
	1.5	2.7295	0.4361	
	2	1.8483	0.2668	
0.07	0	10.3061	1.0131	y = -0.4082x + 1.0044 (r = 0.9989)
	0.5	6.3918	0.8056	
	1	3.7302	0.5717	
	1.5	2.4571	0.3904	
	2	1.5860	0.2003	
0.09	0	10.3009	1.0129	y = -0.4624x + 0.9955 (r = 0.9983)
	0.5	5.7988	0.7633	
	1	3.1487	0.4981	
	1.5	2.0169	0.3047	
[0085]	2	1.2195	0.0862	

[0086] pH = 4 t = 85°C时不同浓度缓冲液中抗栓素表观水解速率常数

缓冲液浓度 B_r (mol · L ⁻¹)	斜率	K (h ⁻¹)	回归结果
0.010	-0.2839	0.6538	
[0087] 0.030	-0.3305	0.7611	y = 5.0056x + 0.6051 (r = 0.9982)
0.050	-0.3722	0.8572	
0.070	-0.4082	0.9401	
0.090	-0.4624	1.0649	

[0088] (2) pH = 4, t = 80°C的条件下抗栓素的稳定性试验

[0089] H = 4 t = 80°C不同浓度缓冲液中抗栓素表观水解速率常数测定结果

[0090]

缓冲液浓度 B_r (mol · L ⁻¹)	取样时间 T (h)	含量 C (mg · ml ⁻¹)	对数浓度 logC	回归结果
0.01	0	10.2245	1.0096	y = -0.1289x + 0.9868 (r = 0.9987)
	2	5.0858	0.7064	
	4	2.9308	0.4670	
	6	1.5766	0.1977	
	8	0.9431	-0.0255	
0.03	0	10.2758	1.0118	y = -0.1594x + 1.0033 (r = 0.9998)
	2	4.6896	0.6711	
	4	2.3509	0.3712	
	6	1.1021	0.0422	
	8	0.5403	-0.2673	
0.05	0	10.2449	1.0105	y = -0.1712x + 0.9864 (r = 0.9990)
	2	4.1620	0.6193	
	4	2.0079	0.3027	

		6	0.8614	-0.0648	
		8	0.4373	-0.3593	
		0	10.3061	1.0131	
		2	3.9381	0.5953	$y = -0.1884x + 0.9903$
	0.07	4	1.7038	0.2314	$(r = 0.9992)$
		6	0.6830	-0.1656	
[0091]		8	0.3233	-0.4904	
		0	10.3009	1.0129	
		2	3.6294	0.5598	$y = -0.2037x + 0.9876$
	0.09	4	1.4540	0.1626	$(r = 0.9993)$
		6	0.5575	-0.2538	
		8	0.2414	-0.6173	

[0092] pH = 4 t = 80°C时不同浓度缓冲液中抗栓素表观水解速率常数

	缓冲液浓度 B_r (mol · L ⁻¹)	斜率	K (h ⁻¹)	回归结果
	0.010	-0.1298	0.2989	
[0093]	0.030	-0.1594	0.3671	$y = 2.0359x + 0.2909$
	0.050	-0.1712	0.3943	$(r = 0.989)$
	0.070	-0.1884	0.4339	
	0.090	-0.2037	0.4691	

[0094] (3) pH = 4, t = 55°C的条件下抗栓素的稳定性试验

[0095] pH = 4 t = 55°C不同浓度缓冲液中抗栓素表观水解速率常数测定结果

	缓冲液浓度 B_r (mol · L ⁻¹)	取样时间 T (h)	含量 C (mg · ml ⁻¹)	对数浓度 logC	回归结果
[0096]	0.01	0	10.2245	1.0096	$y = -0.0364x + 1.0009$
		4	7.0535	0.8484	
		8	5.0513	0.7034	$(r = 0.9995)$

		12	3.6687	0.5645	
		16	2.6581	0.4246	
		0	10.2758	1.0118	
		4	6.6599	0.8235	$y = -0.0419x + 0.9976$
	0.03	8	4.4238	0.6458	
		12	3.0989	0.4912	$(r = 0.9987)$
		16	2.1890	0.3402	
		0	10.2449	1.0105	
		4	6.2765	0.7977	$y = -0.0468x + 0.9988$
	0.05	8	4.1672	0.6198	
		12	2.7703	0.4425	$(r = 0.9994)$
[0097]		16	1.7894	0.2527	
		0	10.3061	1.0131	
		4	6.1716	0.7904	$y = -0.0511x + 1.0035$
	0.07	8	3.8897	0.5899	$(r = 0.9997)$
		12	2.4304	0.3857	
		16	1.5576	0.1925	
		0	10.3009	1.0129	
		4	5.9882	0.7773	$y = -0.0548x + 1.0039$
	0.09	8	3.6208	0.5588	$(r = 0.9998)$
		12	2.2243	0.3472	
		16	1.3574	0.1327	

[0098] pH = 4 t = 55°C时不同浓度缓冲液中抗栓素表观水解速率常数

	缓冲液浓度 B_r ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	斜率	K (h^{-1})	回归结果
[0099]	0.010	-0.0364	0.0838	$y = 0.5297x + 0.0799$
	0.030	-0.0419	0.0965	$(r = 0.9970)$
	0.050	-0.0468	0.1078	

[0100]	0.070	-0.0511	0.1177
	0.090	-0.0548	0.1262

[0101] (4) pH = 4, t = 40°C 的条件下抗栓素的稳定性试验

[0102] 表 2-1 pH = 4 t = 40°C 不同浓度缓冲液中抗栓素表观水解速率常数测定结果

[0103]

缓冲液浓度 B_r ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	取样时间 T (h)	含量 C ($\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$)	对数浓度 $\log C$	回归结果
0.01	0	10.2245	1.0096	$y = -0.0074x + 1.0088$ ($ r = 0.9983$)
	6	9.2128	0.9644	
	12	8.2408	0.9160	
	18	7.6308	0.8826	
	24	6.7593	0.8299	
0.03	0	10.2758	1.0118	$y = -0.0084x + 1.0092$ ($ r = 0.9994$)
	6	9.0569	0.9570	
	12	8.0635	0.9065	
	18	7.1501	0.8543	
	24	6.4570	0.8100	
0.05	0	10.2449	1.0105	$y = -0.0095x + 1.0079$ ($ r = 0.9987$)
	6	8.9742	0.9530	
	12	7.7104	0.8871	
	18	6.8577	0.8362	
	24	6.0983	0.7852	
0.07	0	10.3061	1.0131	$y = -0.01x + 1.0088$ ($ r = 0.9987$)
	6	8.7927	0.9441	
	12	7.6638	0.8844	
	18	6.8284	0.8343	
	24	5.8629	0.7681	
0.09	0	10.3009	1.0129	$y = -0.0109x + 1.0106$ ($ r = 0.9993$)
	6	8.7032	0.9397	

[0104]

12	7.6392	0.8830
18	6.5762	0.8180
24	5.5990	0.7481

[0105] pH = 4 t = 40°C时不同浓度缓冲液中抗栓素表观水解速率常数

缓冲液浓度 B_r ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	斜率	K (h^{-1})	回归结果
0.010	-0.0074	0.0170	
[0106] 0.030	-0.0084	0.0193	$y = 0.099x + 0.0163$
0.050	-0.0095	0.0219	($ r = 0.9936$)
0.070	-0.010	0.0230	
0.090	-0.0109	0.0251	

[0107] 6. pH5 的缓冲液中抗栓素稳定性试验

[0108] (1) pH = 5, t = 85°C的条件下抗栓素的稳定性试验

[0109] pH = 5 t = 85°C不同浓度缓冲液中抗栓素表观水解速率常数测定结果

[0110]

缓冲液浓度 B_r ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	取样时间 T (h)	含量 C ($\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$)	对数浓度 logC	回归结果
	0	10.4792	1.0203	
	1	9.7448	0.9888	$y = -0.0326x + 1.0215$
0.01	2	9.1217	0.9601	($ r = 0.9989$)
	3	8.3386	0.9211	
	4	7.7831	0.8912	
	0	10.4186	1.0178	
	1	9.4011	0.9732	$y = -0.0432x + 1.0133$
0.03	2	8.2649	0.9172	($ r = 0.9972$)
	3	7.6052	0.8811	
	5	6.3419	0.8022	
0.05	0	10.4526	1.0192	$y = -0.0514x + 1.0149$

[0111]

	1	9.2075	0.9641	($ r = 0.9975$)
	2	8.0248	0.9044	
	3	7.1967	0.8571	
	4	6.5422	0.8157	
	0	10.4316	1.0184	
	1	9.1280	0.9604	$y = -0.0603x + 1.0202$
0.07	2	7.9892	0.9025	($ r = 0.9998$)
	3	6.9110	0.8395	
	4	5.9888	0.7773	
	0	10.4515	1.0192	
	1	8.5678	0.9329	$y = -0.0683x + 1.0133$
0.09	2	7.6387	0.8830	($ r = 0.9976$)
	3	6.4402	0.8089	
	4	5.4913	0.7397	

[0112] pH = 5 t = 85℃时不同浓度缓冲液中抗栓素表观水解速率常数

	缓冲液浓度 B_r ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	斜率	K (h^{-1})	回归结果
	0.010	-0.0326	0.0751	
[0113]	0.030	-0.0432	0.0995	$y = 1.0191x + 0.0669$
	0.050	-0.0514	0.1184	($ r = 0.9987$)
	0.070	-0.0603	0.1389	
	0.090	-0.0683	0.1573	

[0114] (2) pH = 5, t = 80℃的条件下抗栓素的稳定性试验

[0115] pH = 5 t = 80℃不同浓度缓冲液中抗栓素表观水解速率常数测定结果

	缓冲液浓度 B_r ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	取样时间 T (h)	含量 C ($\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$)	对数浓度 logC	回归结果
[0116]	0.01	0	10.4792	1.0203	$y = -0.0268x + 1.015$

[0117]

	2	8.8330	0.9461	$(r = 0.9904)$
	4	8.1864	0.9131	
	6	7.3766	0.8679	
	8	6.1844	0.7913	
	0	10.4186	1.0178	$y = -0.0326x + 1.0088$
	2	8.5777	0.9334	
0.03	4	7.4467	0.8720	$(r = 0.9968)$
	6	6.6061	0.8199	
	8	5.5980	0.7480	
	0	10.4091	1.0174	$y = -0.037x + 1.0166$
	2	8.7383	0.9414	
0.05	4	7.3693	0.8674	$(r = 0.9999)$
	6	6.2624	0.7967	
	8	5.2438	0.7196	
	0	10.4316	1.018353	$y = -0.0423x + 1.0167$
	2	8.4406	0.9264	
0.07	4	7.1522	0.8544	$(r = 0.9993)$
	6	5.7523	0.7598	
	8	4.7699	0.6785	
	0	10.4520	1.019201	$y = -0.0459x + 1.0264$
	2	8.5066	0.9298	
0.09	4	7.1098	0.8519	$(r = 0.9980)$
	6	5.8284	0.7655	
	10	3.6017	0.5565	

[0118] pH = 5 t = 80°C时不同浓度缓冲液中抗栓素表观水解速率常数

	缓冲液浓度 B_r (mol · L ⁻¹)	斜率	K (h ⁻¹)	回归结果
[0119]	0.010	-0.0268	0.0617	$y = 0.5516x + 0.0574$

	0.030	-0.0326	0.0751	($ r =0.9987$)
[0120]	0.050	-0.037	0.0852	
	0.070	-0.0423	0.0974	
	0.090	-0.0459	0.1057	

[0121] (3) pH = 5, t = 55°C 的条件下抗栓素的稳定性试验

[0122] pH = 5 t = 55°C 不同浓度缓冲液中抗栓素表观水解速率常数测定结果

[0123]

缓冲液浓度 B_r ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	取样时间 T (h)	含量 C ($\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$)	对数浓度 logC	回归结果
0.01	0	10.4792	1.0203	
	4	10.0566	1.0024	$y = -0.0043x + 1.019$
	8	9.5999	0.9823	($ r =0.9986$)
	12	9.3247	0.9696	
	20	8.5991	0.9345	
0.03	0	10.4186	1.0178	
	4	9.7908	0.9908	$y = -0.0055x + 1.0156$
	8	9.4079	0.9735	($ r =0.9971$)
	12	8.8602	0.9474	
	16	8.5202	0.9304	
0.05	0	10.4091	1.0174	
	4	9.8290	0.9925	$y = -0.0064x + 1.017$
	8	9.1448	0.9612	($ r =0.9963$)
	12	8.8115	0.9451	
	16	8.1906	0.9133	
0.07	0	10.4316	1.0184	
	4	9.7286	0.9880	$y = -0.0072x + 1.0154$
	8	8.8858	0.948697	($ r =0.9937$)
	12	8.5327	0.9311	
	16	7.9976	0.9030	

[0124]

	0	10.4792	1.0203	
	4	9.6804	0.9859	$y = -0.0084x + 1.021$
0.09	8	9.0637	0.9573	$(r = 0.9992)$
	12	8.3480	0.9216	
	16	7.6774	0.8852	

[0125] pH = 5 t = 55℃时不同浓度缓冲液中抗栓素表观水解速率常数

	缓冲液浓度 B_r (mol · L ⁻¹)	斜率	K (h ⁻¹)	回归结果
	0.010	-0.0043	0.0099	
[0126]	0.030	-0.0055	0.0127	$y = 0.114x + 0.0089$
	0.050	-0.0064	0.0147	$(r = 0.9973)$
	0.070	-0.0072	0.0166	
	0.090	-0.0084	0.0193	

[0127] (4) pH = 5, t = 40℃的条件下抗栓素的稳定性试验

[0128] pH = 5 t = 40℃不同浓度缓冲液中抗栓素表观水解速率常数测定结果

	缓冲液浓度 B_r (mol · L ⁻¹)	取样时间 T (h)	含量 C (mg · ml ⁻¹)	对数浓度 logC	回归结果
		0	10.4792	1.0203	
		24	9.8907	0.9952	$y = -0.0009x + 1.0198$
	0.01	48	9.5580	0.9804	$(r = 0.9915)$
		72	8.8267	0.9458	
[0129]		96	8.5657	0.9328	
		0	10.4819	1.0204	
		24	9.8949	0.9954	$y = -0.0012x + 1.0206$
	0.03	48	9.1803	0.9629	$(r = 0.9975)$
		72	8.5573	0.9323	
		96	8.1634	0.9119	

		0	10.4091	1.0174	
		24	9.5031	0.9779	$y = -0.0013x + 1.0152$
	0.05	48	9.0569	0.9570	($ r = 0.9948$)
		72	8.1822	0.9129	
		96	7.7433	0.8889	
		0	10.4316	1.0184	
		24	8.9805	0.9533	$y = -0.0016x + 1.0063$
[0130]	0.07	48	8.3637	0.9224	($ r = 0.9867$)
		72	7.8532	0.8950	
		96	7.1208	0.8525	
		0	10.4520	1.0192	
		24	9.4890	0.9772	$y = -0.0018x + 1.0214$
	0.09	48	8.6441	0.9367	($ r = 0.9989$)
		72	7.8150	0.8929	
		96	6.9471	0.8418	
[0131]	pH = 5 t = 40°C时不同浓度缓冲液中抗栓素表观水解速率常数				

	缓冲液浓度 B_r ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	斜率	K (h^{-1})	回归结果
	0.010	-0.0009	0.0021	
[0132]	0.030	-0.0012	0.0028	$y = 0.0253x + 0.0019$
	0.050	-0.0013	0.0030	($ r = 0.9918$)
	0.070	-0.0016	0.0037	
	0.090	-0.0018	0.0041	

[0133] (5) pH = 5, 室温 ($t = 25^\circ\text{C}$) 的条件下抗栓素的稳定性预测

[0134] (1) 根据 Arrhenius 定律, 以 $\log K$ 对 $1/T$ 作线性回归: 根据各温度下水解的试验结果, 速率常数的对数 $\log K$ 与热力学温度的倒数 $1/T$ 见表 2-2。

[0135] 表 2-2 pH = 5 时各试验温度下消除缓冲液影响的水解速率常数

t	T	1/T	K (h ⁻¹)	LogK
85°C	358K	2.7933 × 10 ⁻³	0.0669	-1.1746
[0136] 80°C	353K	2.8329 × 10 ⁻³	0.0574	-1.2411
55°C	328K	3.0488 × 10 ⁻³	0.0089	-2.0506
40°C	313K	3.1949 × 10 ⁻³	0.0019	-2.7212

[0137] 根据 Arrhenius 定律,以 logK 对 1/T 作线性回归,得直线方程:

[0138] $\log K = -3877.41/T + 9.7091 \quad |r| = 0.9970$

[0139] 将室温 (t = 25°C, 298K) 代入直线方程,得 pH = 5 时室温条件下的水解速率常数:

[0140]

$$K_{25^\circ\text{C}}^{\text{pH}5} = 0.4985 \times 10^{-3} \text{ (h}^{-1}\text{)}$$

[0141] 求得 pH = 5 时室温 (t = 25°C) 条件下的有效期:

[0142]

$$t_c^{\text{pH}5, 25} = \frac{0.1054}{0.4985 \times 10^{-3}} = 211.4 \text{ (h)}$$

[0143] 7. 不同实验条件下的水解速率常数

[0144] 不同实验条件下的水解速率常数

pH 值	温度 (°C)	缓冲剂浓度 (mol · L ⁻¹)	水解速率常数 K
0	25	—	0.4896 (min ⁻¹)
1	25	—	0.0127 (min ⁻¹)
2	25	—	0.0285 (h ⁻¹)
[0145]	85	0	0.027 (min ⁻¹)
	70	0	0.0439 (min ⁻¹)
3	55	0	0.6914 (h ⁻¹)
	40	0	0.1061 (h ⁻¹)
	25	0	1.77 × 10 ⁻² (h ⁻¹)

		85	0	0.6051 (h ⁻¹)
		70	0	0.2909 (h ⁻¹)
	4	55	0	0.0799 (h ⁻¹)
		40	0	0.0163 (h ⁻¹)
[0146]		25	0	4.3233×10 ⁻³ (h ⁻¹)
		85	0	0.0669 (h ⁻¹)
		80	0	0.0574 (h ⁻¹)
	5	55	0	0.0089 (h ⁻¹)
		40	0	0.0019 (h ⁻¹)
		25	0	0.4985×10 ⁻³ (h ⁻¹)

[0147] 实验结果表明 pH 值在 5 以上, 3, 4-O- 异亚丙基莽草酸均具有较好的稳定性。

[0148] 实验例 2 干燥温度的确定实验

[0149] 照实施例 1 处方配制样品, 放入冷冻干燥机中进行预冻, 随后开启真空泵, 进入升华阶段。待冰晶完全消失后, 开始升温, 每隔 5℃ 为一个量程, 以固型物的成型性为宏观考察指标, 观察制剂升温阶段的最高温度。结果见表。

[0150] 干燥温度的确定

	温度	25℃	30℃	35℃	40℃
[0151]	外观	良好	良好	良好	底部有空洞

[0152] 由实验结果可知, 温度高于 35℃ 对制剂的成型性有影响。

[0153] 实验例 3 冻干支撑剂的选择

[0154] 以冻干后制品的外观和复溶为指标, 对加入甘露醇作为支撑剂与不加支撑剂进行了比较, 结果见下表。

[0155] 支撑剂筛选实验

项目\编号	1	2	3	4
每支含药量 (mg)	50	50	50	50
[0156] 甘露醇(mg)	0	100	250	400
外观	均一块状物	均一块状物	均一块状物	均一块状物
复溶性(每支加入 10ml 注射盐水)	澄清	澄清	澄清	澄清

[0157] 结论:以上实验可以看出,加入甘露醇作为支撑剂与不加支撑剂直接冻干都可以得到外观均一的冻干制剂,复溶后溶液澄清。

[0158] 下述实施例均能实现上述实验例的效果。

[0159] 实施例 1

[0160] 3,4-0- 异亚丙基莽草酸 10g

[0161] 氢氧化钠 2.37g

[0162] 磷酸二氢钠 8.44g

[0163] 磷酸氢二钠 4.6g

[0164] 取 3,4-0- 异亚丙基莽草酸,加注射用水 1000g 溶解,按组方量加入氢氧化钠、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠,121℃热压 0.7kg/cm² 灭菌 30 分钟,微孔滤膜过滤后超滤,超滤液分装于西林瓶,在冷冻干燥箱中,冻至 -35℃ 以下,保温 3 小时;开启真空泵,进入升华阶段,升华的最高温度控制在 -14℃ 以下;待冰晶完全消失后,转入干燥阶段,干燥温度为 30℃。制备成 200 瓶。

[0165] 静脉滴注。一次 1 ~ 2 支,一日 1 次。用 5% 葡萄糖或 0.9% 氯化钠注射液稀释至 250 ~ 500ml 后使用。

[0166] 实施例 2

[0167] 称取抗栓素 10 克,加入氢氧化钠、磷酸氢二钠,磷酸二氢钠,调节 pH 值为 7,稀配至 1000 毫升,微孔滤膜(孔径 0.22 μm) 过滤,分装于西林瓶中,每支装 5ml,冷冻干燥,即得。进行检验,制备工艺重现性良好,见下表。

[0168] 检验结果

批号	050602	050608	050615
性状	白色冻干粉末	白色冻干粉末	白色冻干粉末
[0169] 装量 (mg/支)	129.28	128.72	130.19
抗栓素含量 (mg/支)	50.75	50.15	50.90
复溶性	合格	合格	合格
药液 pH 值	7.01	7.22	7.05

[0170] 实施例 3

[0171] 取 3,4-0- 异亚丙基莽草酸 5g,加注射用水 250g 溶解,加入氢氧化钠调节 pH 为

7, 121℃热压 0.7kg/cm² 灭菌 30 分钟, 微孔滤膜过滤后超滤, 超滤液分装于西林瓶, 在冷冻干燥箱中, 冻至 -35℃以下, 保温 3 小时; 开启真空泵, 进入升华阶段, 升华的最高温度控制在 -14℃以下; 待冰晶完全消失后, 转入干燥阶段, 干燥温度为 30℃。