

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁷
C07D493/10 B01D 11/02
//(C07D493/10,307: 00,
307: 00)

[12] 发 明 专 利 说 明 书

[21] ZL 专利号 97181524.0

[45]授权公告日 2002 年 12 月 11 日

[11]授权公告号 CN 1095845C

[22]申请日 1997. 12. 19 [21]申请号 97181524.0
[30]优先权
[32]1996. 12. 20 [33]KZ [31]9609951
[32]1997. 4. 23 [33]KZ [31]9703971
[86]国际申请 PCT/KZ97/00006 1997. 12. 19
[87]国际公布 WO98/28303 英 1998. 7. 2
[85]进入国家阶段日期 1999. 7. 23
[73]专利权人 “塔比法尔”有限责任公司
地址 哈萨克斯坦卡拉加塔市
[72]发明人 S·M·阿德克诺夫
[56]参考文献
ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY (第 3 版)
1985. 1. 1 J. MARCH
C. A. VOL. 98. NO. 11, 86299Q 1983. 3. 1 S. M.
ADEKENOV

审查员 穆森昌
[74]专利代理机构 上海专利商标事务所
代理人 章鸣玉

权利要求书 1 页 说明书 10 页 附图 2 页

[54]发明名称 制取冻干的 1β,10β - 环氧 - 13 - 二甲基
氨基 - 愈创 - 3(4) - 烯 - 6,12 - 内酯盐
酸盐的方法和装置

[57]摘要
本发明一种由植物 *Artemisia glabella* Kar. et Kir 制取
1β,10β - 环氧 - 13 - 二甲基氨基 - 愈创 - 3(4) - 烯 -
6,12 - 内酯盐酸盐的方法,该方法包括从起始产物中提
取树脂,从无价值的物质中将其纯化出来,用柱色谱法将
该树脂分离成单独的成分,得到工业级阿格拉宾,然后再
将其重结晶、胺化和氢氯化,得到氨基阿格拉宾盐酸盐,
再将所得产物进一步重结晶,干燥,冻干并用 IR 光谱法
对冻干的阿格拉宾进行质量鉴定。本发明还涉及一种用
于上述方法的装置。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种由当地植物 *Artemisia glabella* Kar.et Kir 制取冻干的1 β , 10 β -环氧-13-二甲基氨基-愈创-3(4)-烯-6, 12-内酯盐酸盐的方法, 该方法包括从起始产物中提取树脂, 从无价值的物质中将其纯化出来, 用柱色谱法将该树脂分离成单独的成分, 得到工业级阿格拉宾, 然后再将其重结晶、胺化和氯化, 得到氨基阿格拉宾盐酸盐, 再将所得产物进一步重结晶, 干燥, 冻干并用 IR 光谱法对冻干的阿格拉宾进行质量鉴定, 其中,

胺化是通过以下方法进行的: 将阿格拉宾晶体溶解在醇中, 然后往该溶液中加入二甲胺, 使 pH 达到 12.3 - 12.4; 为从含氨基阿格拉宾的溶液中得到氨基阿格拉宾盐酸盐, 蒸去醇, 加入氯仿, 将残留的水除去, 并将所得溶液过滤, 蒸去氯仿, 加入醇, 然后往该溶液中鼓泡通入氯化氢气体, 使溶液 pH 达到 5.0 - 5.5, 蒸去醇, 加入乙酸乙酯。

2. 用于从天然原料中提取冻干的阿格拉宾的装置, 该装置由卧式提取器组成, 该提取器包括被具有通向不少于 3 个区段的通道口的隔板隔开的圆柱形壳体, 分离室和湿度调节室, 安装在与壳体同一轴线上的轴, 在该轴上连接有重新加料用的长柄勺、叶片式混合器和加料器, 其中,

提取器具有用于从废料中除去提取物的带加热壁和干废料收集器的另外的区段, 接触区的器壁是用水冷却的, 与蒸气-气体介质接触的该壁上部的冷却夹套的空腔和与提取出来的混合物接触的该壁下部的冷却夹套的空腔彼此不连接;

气体循环系统与提取器空腔连接, 该供气系统由与提取器接触区的空腔连接的支管、低温冷凝器和排风机组成;

置于分离室中的导螺杆与提取器的轴连接;

分离室与湿度调节室之间的隔板的上部具有另外的通道口。

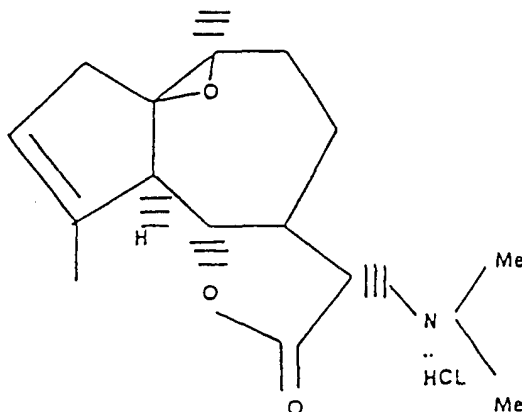
3. 如权利要求 2 所述的装置, 其中, 提取器的圆柱形壳体是倾斜的。

4. 如权利要求 2 或 3 所述的装置, 其中, 用于从提取器的分离室中取出提取物的支管与离心过滤机连接, 而离心过滤机与蒸发器和冷凝器串联。

制取冻干的 $1\beta, 10\beta$ - 环氧 - 13 - 二甲基氨基 -
愈创 - 3 (4) - 烯 - 6, 12 - 内酯盐酸盐的方法和装置

5

本发明涉及制药工业，涉及倍半萜烯内酯，更具体地说，涉及制取具有下式的冻干的 $1\beta, 10\beta$ - 环氧 - 13 - 二甲基氨基 - 愈创 - 3 (4) - 烯 - 6, 12 - 内酯盐酸盐的方法，



10

$1\beta, 10\beta$ - 环氧 - 13 - 二甲基氨基 - 愈创 - 3 (4) - 烯 - 6, 12 - 内酯具有抗肿瘤活性，可用来开发新的化学治疗恶性肿瘤的制剂。

由天然原料〔当地植物 *Artemisia glabella* Kar.et Kir (苦艾属植物)〕的花瓣和叶子制取具有抗肿瘤活性的阿格拉宾 (arglabin) 冻干品的方法在哈萨克斯坦共和国预告专利第 5277 号 (分类号 C07D307/93, A61K, 31/365, 1997) 中有叙述。

根据该方法，将最初干研磨过的天然原料用溶剂在提取器中进行处理，然后通过用乙醇的 60 % 水溶液进行处理，将提取出来的物质 (树脂) 从无价值的产物中纯化出来。用硅胶柱色谱法将在纯化阶段中制得的树脂分成不同的成分。用苯对色谱柱进行洗脱，然后分离出含阿格拉宾流分。将苯蒸去，制得工业级阿格拉宾，然后使其结晶，胺化和氯化。在该方法中，用二甲胺进行胺化，产生含阿格拉宾的溶液。接着，往氨基阿格拉宾的醇溶液中鼓泡通入氯化氢气体，得到目标产物氨基阿格拉宾盐酸盐。胺化和氯化反应用薄层层析法进行控制。将工业级的氨基阿格拉宾盐酸盐结晶纯化，然后干燥，冻干。

上述方法的缺点是，在胺化和氯化反应中，目标产物的收率相当低。

在提取时，使用不同的装置，例如，使用由提取区中的有夹套的提取器，蒸

发器，冷凝器和加热器组成的装置（苏联发明人证书第 1117071 号，分类号 B01D11/02，1984）。

苏联发明人证书第 670310 号（分类号 B01D11/02，1979）描述了一种用于气-液提取的装置，它由蒸发器、冷凝器和提取器组成，其中，用在使由蒸发器传
5 送出来的抽提剂（extragent）蒸气冷凝时产生的热量加热提取出来的混合物，该热量是通过提取器壁传送的。

所有这些装置的缺点是它们的操作周期不能提供较高的生产率。这些装置也无法将抽提剂从废料中提取出来，其结果是导致提取物的很大损失。在苏联发明人证书第 1117071 号中，用另外的电源对反应混合物进行加热，这增加了提取生
10 产过程中的能耗。

苏联发明人证书第 1426611 号（分类号 B01D11/00，1988）描述了一种用于在固-液体系中进行提取的装置，它由壳体、带可变容器的提取室、蒸发器和冷凝器组成，该装置可在提取的最后阶段用热的惰性气体蒸馏来自固相的提取剂。该装置也无法进行连续的操作，且其生产率低。此外，当在用水冷却冷凝器的同时
15 用热的气体蒸馏挥发性提取剂时，可将所有提取剂与气体一起带走而无需将其在冷凝器中冷凝。例如，根据我们的计算，若要用初温为 70 °C 的气体蒸馏氯仿并将其在冷凝器中冷却至 20 °C，需要 5 m³ 的气体来蒸发 1kg 的氯仿，而对于氯仿的冷凝，气体中的氯仿分压不能低于在 20 °C 的饱和分压（饱和分压相当于 1 kg 氯仿在 1 m³ 气体中的分量）。因此，在上述例子中，气体中的氯仿分压低于冷凝
20 所需值的 1/5，即，不能在冷凝器中冷凝且所有氯仿将与气体一起从冷凝器逸出。

还有一些用于从废料中除去溶剂的特殊装置，例如，一种用于从固体物质中除去溶剂的方法和装置，所述装置由用于废料与热载体接触的容器、将提取剂与热载体分离的分离器、用于将提取剂蒸气冷凝的冷凝器组成（专利 EPV No.00356338，分类号 B01D11/00，1990）。

25 这些装置均较复杂且耗能，此外，当将废料从提取装置重新加到其他装置中去时，不能避免提取剂损失，或者需要用复杂的密封装置来重新加料。

与本申请要求保护的装置最接近的是可对干的天然原料进行连续操作的分区叶片式提取器，它由被具有通向不少于 3 个区段的通道口的隔板隔开的圆柱形壳体、分离室和湿度调节室、安装在与壳体同一轴线上的带重新加料勺的轴组成，
30 混合叶片和加料器连接在上述轴上（苏联发明人证书第 1627208 号，分类号 B01D11/02，1991）。

与前述装置相比，该设计的生产率有所提高，但这种提高是不充分的。该设

计的缺点是，由于该装置不能将提取剂从废料中提取出来，导致提取剂损失，因此，其提取剂消耗也较大。使用其他已知的装置从废料中提取提取剂会使装置成本增加许多，并需要额外的装置以将湿的废原料重新加料和传送且不使提取剂向环境逸散。

- 5 本发明的目的是，开发一种能达到以下目的的方法和装置：目标产物的收率高，能将提取物从原料中完全提取出来和提高提取装置的生产率，减少能耗，将提取剂的损失减少至最小，避免提取剂向环境逸散，从而确保生产环境的安全。

10 根据本发明，这些任务是用权利要求 1 的方法和权利要求 3 的装置来完成的。在从属权利要求中，给出了本发明的优选实施方式。

由当地植物 *Artemisia glabella* Kar.et Kir 制取可用作抗肿瘤制剂的冻干的阿格拉宾（即 1β , 10β - 环氧 - 13 - 二甲基氨基 - 愈创 - 3 (4) - 烯 - 6, 12 - 内酯）盐酸盐的方法包括从原料中提取树脂，从无价值的副产物中将其纯化出来，用柱色谱法将该树脂分离成单独的成分，将制得的工业级阿格拉宾重结晶、胺化和氯化，得到氨基阿格拉宾盐酸盐，再将所得产物重结晶，干燥，冻干并进行高质量的鉴定，其中，优选的胺化方法是，往重结晶后得到的阿格拉宾的醇溶液中加入二甲胺，使 pH 达到 12.3 - 12.4；为从含氨基阿格拉宾的溶液中得到氨基阿格拉宾盐酸盐，蒸去醇，加入氯仿，将残留的水除去，并将所得溶液过滤，蒸去氯仿，加入醇，然后往该溶液中鼓泡通入氯化氢气体，使溶液 pH 达到 5.0 - 5.5，蒸去醇，加入乙酸乙酯。

较好的是，用 IR 光谱法高质量地鉴定阿格拉宾。

在要求保护的方法中，在 pH 溶液的操作参数给定的条件下将阿格拉宾溶液胺化和氯化，可高收率地得到 13 - 二甲基氨基阿格拉宾和 13 - 二甲基氨基阿格拉宾盐酸盐。从而可最终高收率地得到目标产物。

25 本发明还包括实施此方法的装置。本发明的技术结果用由卧式提取器组成的用于从天然原料中提取冻干的阿格拉宾的装置而实现的，该提取器包括：被具有通向不少于 3 个区段的通道口的隔板隔开的圆柱形壳体，分离室和湿度调节室，安装在与壳体同一轴线上的带重新加料勺的轴，在该轴上连接有重新加料用的长柄勺、叶片式混合器和加料器，提取器具有用于从废料中进行提取的带加热壁和干废料收集器的另外的区段，接触区的器壁是用水冷却的，与蒸气-气体介质接触的该壁上部的冷却夹套的空腔和与提取出来的混合物接触的该壁下部的冷却夹套的空腔彼此不连接，气体循环系统与提取器空腔连接，该气体循环系统由与干

废料收集器连接的供气支管、与提取器接触区的空腔连接的除气支管、低温冷凝器和排风机组成，安装在分离室中的导螺杆与提取器的上述轴连接，分离室与湿度调节室之间的隔板的上部具有另外的通道口。

在本发明的一个实施方式中，提取器的圆柱形壳体是倾斜的。

- 5 在本发明的另一个实施方式中，用于从提取器的分离室中取出提取物的支管与离心过滤机连接，而离心过滤机与蒸发器和冷凝器串联。

本发明的优点是，与已知的装置相比，在本发明的设计中，将提取的混合物加热并将其温度保持在将提取剂蒸气在提取器内冷凝所需要的水平上，还使用冷凝产生的热来加热量提取的混合物，这样，可提高提取生产率和减少提取剂的消耗和能耗。

- 10 较好的是，本发明的装置具有另外的带加热壁的区段，加热壁是用来从废料中除去提取剂，以减少提取剂的损失。

- 本发明的装置具有气体循环系统，可将进入提取器的原料的孔隙中的气体除去，从而防止提取剂蒸气逸散到大气中并避免提取剂损失，还可除去空气或其他
15 气体，这些空气或其它气体是用来在将干废料卸下之前替换其孔隙中的提取剂蒸气以减少提取剂的损失。

本发明的装置可在提取物纯化之后提取物从提取器中取出之前连续地从分离室中除去沉淀的或悬浮的颗粒。

- 较佳的技术能使装置在对环境安全的情况下操作而不会有提取剂逸散到环境
20 中，而且能使气体在逸散到大气中之前从提取器深沉淀出来。

本发明的提取器可用液体提取剂连续地多阶段地提取最终产物，其方法是，将提取混合物在最佳提取温度连续地混合和使原料与提取剂逆流，这样，可确保最终产物最完全地从原料中提取出来和达到最高生产率且没有提取剂损失。

下面通过实施例对本发明作详细说明。

- 25 图1是提取器的纵向截面图。

图2是从原料中提取冻干的阿格拉宾的装置的示意图。

- 提取器由被垂直的隔板2和3隔成多个区段的圆柱形的倾斜的壳体1组成。隔板4将第一区段成分离室5和湿度调节室6。沿着壳体的轴线，安装旋转轴7，并将重新加料用的长柄勺8和叶片式混合器9连接在该旋转轴7上。在分离室5
30 （沉淀器）中有多个外围导螺杆10，导螺杆与壳体之间有小的空隙，其在提取器上面的内缘浸入液体中。在隔板4的上部，有通道口11，其下缘位于液体水平面上。在隔板4的下部还有通道口12。将带加料机和原料料斗的加料装置13

安装在提取器第一区段中的湿度调节室 6 上面。在隔板 2 中有二个通道口 7，上通道口 14 是将原料用来重新加到下一个区段的，被网状物盖住的下通道口 15 是用来传送提取剂的。

在提取器中还可以有一个或数个接触区 16。在原料所移动到的最后一个区段 5（即，接触区 17），在隔板 3 中在比提取混合物的高度低的部分无通道口，是密封的。

在靠近接触区 16、17 的提取器壳体 1 上，有水夹套 18 和 19。水夹套 18 的位置超过提取器中提取出来的混合物的高度，水夹套 19 则低于混合物的高度。二个夹套的空腔彼此不连通，具有各自独立的供水和排出冷却水的支管。

10 在原料所移动到的最后一个接触区 17 的后面，另有一个区段 20（干燥器），它是用来从废原料中除去提取剂。在区段 20 的壳体上，通常在其与废料接触的下部，安装加热器 21（例如，电加热器）。在区段 20，设有干废料收集器 22，它有一个装铰链的格栅窗 23，收集器 22 的卸料口被可方便地打开的盖子 24 盖住。管道 25 是用来供应空气或惰性气体以使收集器 22 中的废料换气。用例如加
15 热器 21 或专门的气体加热器将气体加热。在靠近接触区 16 的壳体 1 的上面，有一个用于从提取器中除去气体的支管 26，该支管与低温冷凝器 27 连接，低温冷凝器 27 由制冷机供应的冷却剂进行冷却。排风机 28 是用来排出气体的。

提取器的操作步骤如下：

将干的研碎的天然原料（*Artemisia glabella* Kar.et Kir 的花瓣和叶子）通过加
20 料机加到湿度调节室 6 中，在那里，用混合器 9 使其与提取剂混合。用重新加料用的长柄勺 8 将被提取剂浸透的原料通过隔板 2 中的进口 14 进入接触区 16，在那里，用混合器 9 使原料与提取剂连续混合，然后移至下一个区段。此外，用重新加料用的长柄勺 8 将原料送入区段 17，并从相反侧向该区段加入新制成的提取剂。在区段 17，用新制成的溶剂洗涤原料，使其无目标产物的残余物，然后
25 用重新加料用的长柄勺送入区段 20，在那里，在提取剂与加热壁接触的过程中将其从废料中蒸出。混合器 9 是用来混合废料，使其能均匀干燥并将其送入废料收集器 22 中，在那里，废料孔隙中的提取剂蒸气被从格栅下送入的热空气或惰性气体置换出来。当收集器 22 装满时，将干的换气过的废料卸掉，为此，将格栅 23 降下并打开盖子 21。提取剂蒸气通过隔板 4 中的上通道口从干燥区 20 流向
30 区段 17，在区段 17，该蒸气大部分在受到通过上水夹套 18 的水冷却的表面以及加热它的提取出来的混合物的表面上冷凝。冷凝的提取剂向下流入提取出来的提取剂混合物中。将提取剂蒸气残余物与空气一起通过隔板中的上通道口流入接

触区 16，在那里，它们被冷凝达到与从提取器排出的蒸气-气体混合物的温度相应的饱和分压。提取出来的混合物的温度通过供向下水夹套 19 的冷却水的量进行调节。将来自提取器的含小量提取剂蒸气的气体通过支管 26 送入由来自制冷机的冷却剂冷却的低温冷凝器 27 中，在该冷凝器中，提取剂蒸气几乎完全从气体中冷凝出来。将来自冷凝器 27 的冷凝物返回至提取器中。将已除去了提取剂蒸气的气体通过排风机 28 排入大气中。将进入提取器的原料空隙中的空气以相同的途径通过支管 26 排出。

新制成的提取剂进入靠近废料卸料器的区段 17，来自干燥区 20 的冷凝的提取剂向下流至同一处。反应器中的提取剂以与原料流动相反的方向通过隔板中的下通道口 15 在一个个区段之间移动。在这些通道口上的格栅阻止原料的反向移动。提取剂从湿度调节室 6 通过隔板 4 中的下通道口进入分离室 5，在那里，它被纯化，重颗粒下沉，轻颗粒上升，被从分离室至湿度调节室的外围导螺杆除去，悬浮的颗粒被从上通道口 11 除去，沉淀的颗粒被从下通道口 12 除去。纯化的提取物（被提取物质饱和了的提取剂）被从提取器的靠近轴线的区域送出，如图 2 所示作进一步的处理。

根据图 2 中给出的示意图，提取装置由连续操作的逆流区提取器 1 组成，该提取器 1 具有用于用普通的传动装置 3 从废料中除去提取剂的另外的带加热壁的区段 2。由中间料仓 4、带传动装置 6 和管道 7 的加料机 5 组成的加料器安装在提取器上。内有原料的可变容器 8 在中间料仓 4 的上面，标准的工艺袋（craft-sack）用作可变容器。泵 9 是用来将提取物从提取器 1 送入位于提取器上面的离心过滤机 10 中，在那里，提取物中的悬浮颗粒被除去。在离心机中从提取物沉淀出来的颗粒被从离心机送入提取器的最后阶段。然后，提取物被送入具有内置蒸气发生器的膜式蒸发器 11 中进行浓缩。浓缩的提取物被定期地从冷凝器 11 倾入到可变的容器 12 中。蒸发器 11 与水冷却的冷凝器 13 连接，从冷凝器 13 蒸馏出来的提取剂被送入缓冲罐 19 中。纯的提取剂被从罐 19 送入提取器的最后阶段，并以与原料流动相反的方向移向第一阶段，从中提取出目标物质。罐 19 装备有液位计、流量计及提取剂流量的调节器。

提取器 1 装备有用于除去气体的系统，该系统由用水冷却的冷凝器 14、同时起氟利昂制冷机的蒸发器的作用的冷冻室 15（所用的冷冻室是家用电冰箱的冷冻室）和排风机 17 组成。来自提取器的气体被送入冷凝器中，在那里，未在提取器壁上冷凝的多余的提取剂蒸气被冷凝。此外，气体进入冷冻室 15，冷冻室壁的温度被制冷机 16 保持在 $-15 - 20^{\circ}\text{C}$ ，留在气体中的提取剂蒸气在冷冻室

壁上冷凝。然后，用排风装置 17 将实际上完全除去提取剂蒸气的气体排入建筑物中的共用通风系统中。

加工和干燥过的原料被收集到容易取出的可变容器 18（一种标准的工艺袋）中。

- 5 用于对装置进行指示、控制、调节、发信号和保护仪器安装在控制板 20 上。装置的所有单元在低压下操作，使用低压的目的在于防止蒸气进入厂房。

装置安装在其自己的框架中，不需要特别的基础。其操作由 1 - 2 个受过专门训练的操作员进行。

- 10 当准备对装置进行维修或改变原料或提取剂时，装置的设计能使其无需拆卸即可将提取剂完全清除而不会逸散到环境中造成提取剂损失，可几乎完全地（95 - 98 %）从原料中回收提取剂。

装置设计成可观察其操作和对其重新调整而无需将原料或提取剂卸下和不会使提取剂逸散到环境中去。

- 15 在工作日期间，生产 0.539kg 树脂（提取出来的物质的总量），它相当于干原料的 7 %。将所产生的树脂再送入阶段 II，在那里，它被除去副产物而纯化。

- 20 为此，将树脂用 1.078 升加热至 60 °C 的乙醇进行处理，搅拌下将该树脂溶解在乙醇中。然后倒入加热的蒸馏水，加入的蒸馏水与乙醇的体积比为 1：2。将混合物小心地混合 30 分钟，然后在室温静置 24 小时。在该期间，有副产物沉淀。接着在 24 小时里，用混合器将沉淀物混合，然后真空过滤醇-水溶液。在真空和 50 - 52 °C 的温度下，将乙醇与水的共沸混合物（含 68 - 70 % 乙醇）的形式从所得到的过滤过的物质中蒸馏出来。得到 286g 树脂。

- 25 在阶段 III，将在阶段 II 产生的树脂用柱色谱法分成各单独的成分。压力下，往色谱柱中加入苯，分离出含阿格拉宾的苯流分。用在 Silufol 板上的薄层层析的方法测定阿格拉宾在苯流分中的存在。将苯流分中的苯蒸去之后，得到黄色油状混合物的工业级阿格拉宾 33.1g，相当于被处理的树脂的 11.7 %。

阶段 IX 是阿格拉宾重结晶的步骤。为此，通过在水浴上加热，将工业级阿格拉宾溶解在己烷中。阿格拉宾（kg）与溶剂（l）之比为 1：10。然后将所得溶液在真空下过滤。在冷却至室温的过程中，阿格拉宾的结晶开始从滤液中析出。将己烷完全除去之后，得到 21g 阿格拉宾（63 %）。

- 30 在阶段 X 和 XI，将阿格拉宾胺化和氯化。为制得氨基阿格拉宾，将阿格拉宾晶体溶解在醇中。然后，往该醇溶液中加入二甲胺直至 pH 为 12.3 - 12.4。接着，将醇从含氨基阿格拉宾的溶液中蒸去，然后倒入氯仿。用分液漏斗将大部分

水除去。然后用干燥剂（ MgSO_4 或 Na_2SO_4 ）将残留的痕量的水除去，直至达到总体透明。处理过程约为 12 - 14 小时。接着，将溶液过滤，蒸去氯仿，加入醇。然后往该溶液中吹入氯化氢直至 pH 达到 5.0 - 5.5。从溶液中蒸去醇，加入乙酸乙酯。将 13 - 二甲基氨基阿格拉宾盐酸盐的晶体沉淀。其收率为 105 %。将溶液蒸干，得到粉状的工业级氨基阿格拉宾盐酸盐。

在阶段 XII，通过分步重结晶将氨基阿格拉宾盐酸盐（工业级产物）纯化。将所得产物溶解在氯仿中，然后用旋转蒸发器除去氯仿。剧烈搅拌下，往残留的树脂中加入乙酸乙酯。将沉淀出来的氨基阿格拉宾盐酸盐的沉淀物通过真空枪进行过滤，用于生产阿格拉宾冻干制剂。阿格拉宾冻干品（目标产物）的产量为 20g（在该阶段为 95 %）。

在最后阶段 XIII，将制得的目标产物在真空下用无水高氯酸镁（anhydron）进行干燥，用无热原性蒸馏水进行溶解，其比例为每 100ml 水中溶解 2g 干物质。将制得的溶液用下述方法中的任何一种进行冻干。

15 方法 1

让制得的水溶液通过具有 Millipore 滤器的罐中的棉纱塞。将溶液用由滤板加以调整的无菌 Millipore 进行过滤后送入无菌玻璃容器中。然后通过真空手段将该溶液从玻璃容器抽吸到量液滴定管中，接着再将其注入 2ml 瓶中，用冻干机 KS-30 进行干燥。为此，将瓶置于盘子上。当盘子上放满瓶子后，用无菌片材将它们包起来，然后放在冷冻计数器上，在 -40°C 硬化 24 小时以上。接着，开始干燥。在开始干燥之后的 2 小时里，开始将盘架加热。将搁盘逐渐加热至 $+50 \pm 5^\circ\text{C}$ 。在干燥的第 12 - 13 小时将产物从零下的温度转到零上的温度。产物的最终温度应不超过 $+60^\circ\text{C}$ 。

干燥时间为 24 小时。冻干之后，立刻用软木塞将内有制剂的瓶塞住，用盖子盖好并将其滚动。各瓶含 0.04g（0.00004kg）制剂。

方法 2

将水溶液用棉纱塞或 8 层纱布进行过滤，然后注入 2ml 的瓶子或安瓿中，在前述条件下冻干。将内有干制剂的瓶子立即用软木塞塞住，用盖子盖好并将其滚动。将安瓿焊接。将内有制剂的瓶子或安瓿装入篮子（bicks）或双层纸袋中，然后在高压灭菌器中于 1.2 个大气压和 120°C 的条件下灭菌 20 分钟。各瓶（安瓿）含 0.4g（0.00004kg）制剂。

方法 3

将制得的水溶液用棉纱塞或 8 层纱布进行过滤，然后往 500ml 的烧瓶中倒入 200ml，用棉纱塞塞住，用油纸包扎。将内有溶液的烧瓶在高压灭菌器中于 1.2 个大气压和 120℃ 的条件下灭菌 30 分钟。将无菌溶液冷却至室温，通过无菌操作往 10ml 瓶子中装入 2ml，然后与前述同样，用冻干机进行干燥。冻干之后，各瓶含 0.4g (0.00004kg) 制剂。

制剂的产量为 17g，由此可计算出该阶段的收率为 88.2%，相对于风干的天然原料，总收率为 0.22%。阿格拉宾的冻干制剂是带苦味的淡黄-白色化合物。

根据本发明，用 IR 光谱法对冻干的阿格拉宾进行高质量的鉴定。用 IR 光谱仪测定标准的阿格拉宾的 1% 氯仿试液的光谱。所得光谱的特征吸收峰在 2800、1775 和 1650 cm^{-1} 。

1775 cm^{-1} 峰是 γ -内酯的羰基的特征吸收峰，它不与其它吸收峰重叠，因此，可用来计算标准阿格拉宾试液的吸收系数。

用下式算出吸收系数：

$$a = \frac{A}{c_1 \cdot c_2 \cdot b}$$

其中，A 是光密度；

c_1 是试样中被研究的化合物的分数 (%)；

c_2 是被分析的溶液中的试样浓度 (%)；

b 是测定用小池的厚度 (mm)。

在标准试样中的阿格拉宾含量等于 100%。在被分析的溶液中的试样浓度为 1%，测定用小池的厚度为 0.4mm。

$$a = \frac{0.9852}{(1) \cdot (100) \cdot 0.4} = 0.02463$$

为进行定量估算，测定已知浓度的阿格拉宾的氯仿溶液的 IR 光谱。将 T% 溶液在 1775 cm^{-1} 的带宽转换成光密度，用下式算出阿格拉宾浓度：

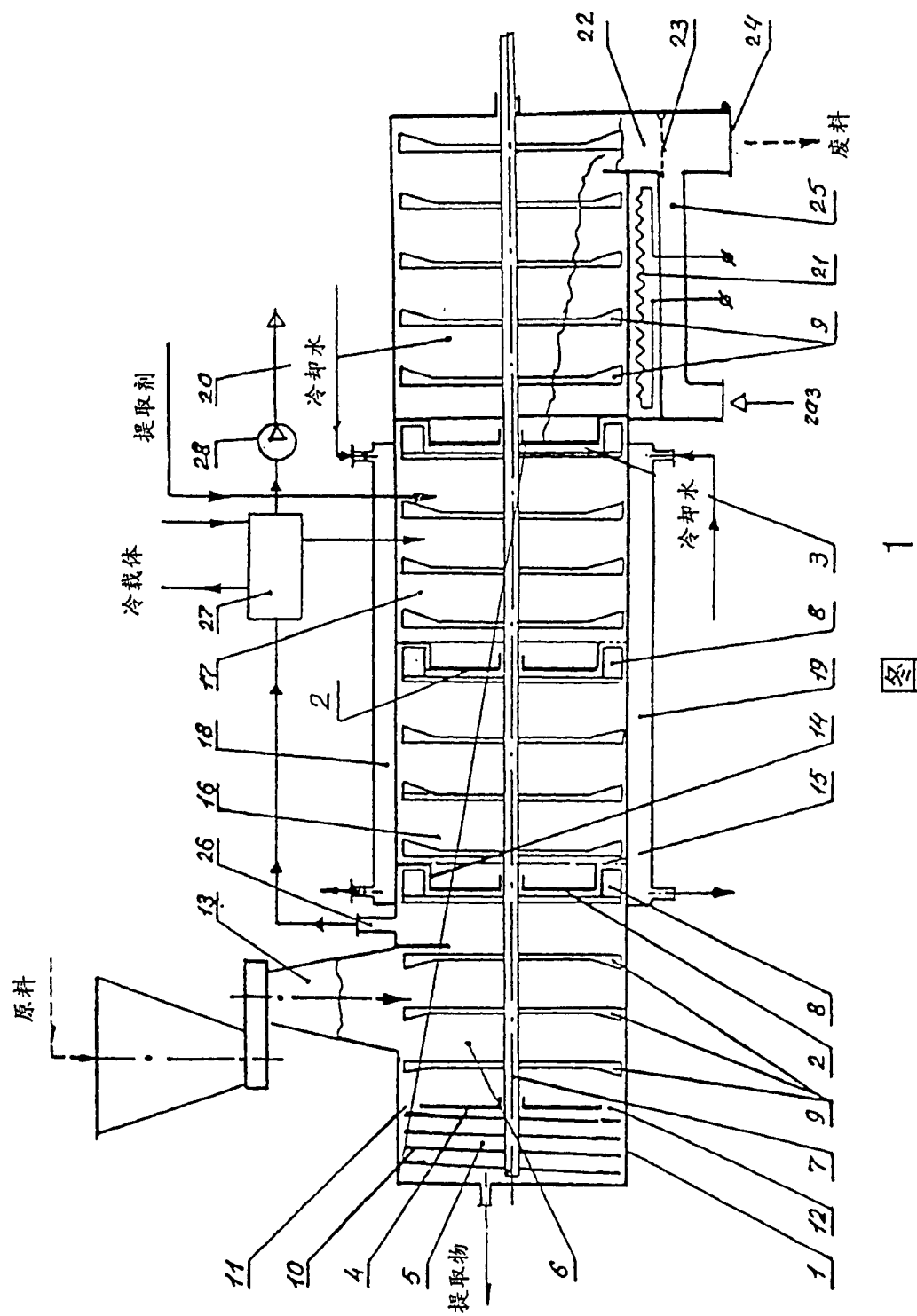
$$C_2 = \frac{A}{a \cdot b \cdot c_1}$$

用分光光度计测定阿格拉宾的百分比浓度，为 99.9% 以上。

对制剂质量的控制还可通过下述方法进行：薄层层析、制剂与硫酸溶液的相互作用的定性反应、测定熔点、旋光率。

用常用技术对本发明的二甲基氨基阿格拉宾盐酸盐制剂药物的抗肿瘤活性和毒性进行了测定。

- 5 因此，本发明的方法和装置能由天然原料生产冻干的阿格拉宾，冻干的阿格拉宾是一种非常有效的抗肿瘤制剂，其抗肿瘤活性和免疫稳定活性高，毒性较低。



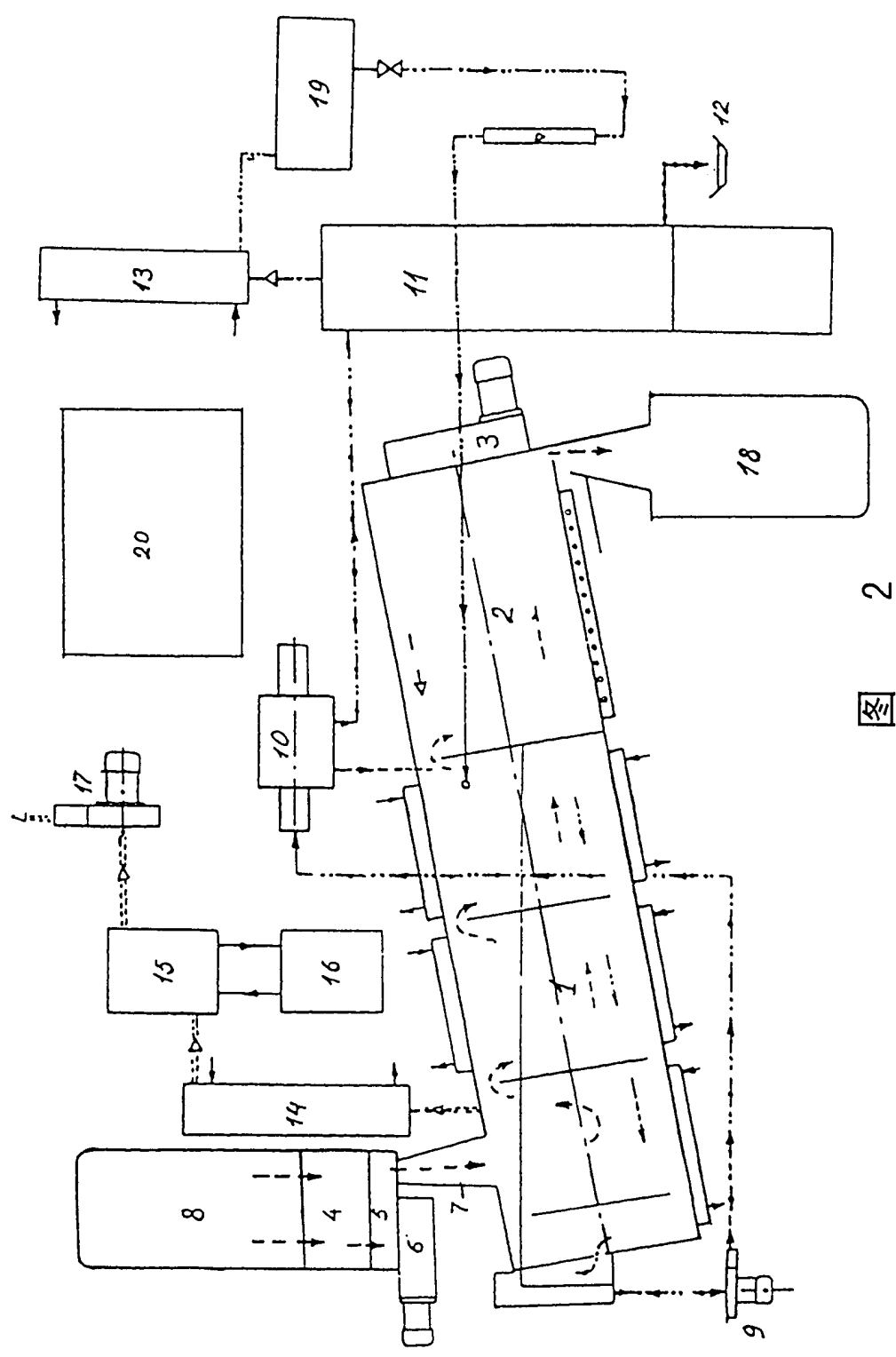


图 2