



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103087095 A

(43) 申请公布日 2013. 05. 08

(21) 申请号 201210541214. 0

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2006. 07. 06

*C07F 9/17* (2006. 01)

(30) 优先权数据

*A01N 57/12* (2006. 01)

60/697, 010 2005. 07. 06 US

*A01P 7/04* (2006. 01)

60/741, 360 2005. 12. 01 US

60/743, 741 2006. 03. 24 US

(62) 分案原申请数据

200680024802. X 2006. 07. 06

(71) 申请人 塔罗制药北美有限公司

地址 英属开曼群岛

(72) 发明人 丹尼拉·格特曼 瓦埃勒·拜多斯西

(74) 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限

责任公司 11240

代理人 张英 刘书芝

权利要求书3页 说明书22页

(54) 发明名称

制备药用马拉硫磷的方法及其组合物

(57) 摘要

本发明涉及制备药用马拉硫磷的方法及其组合物。本发明提供了一种制备马拉硫磷的方法, 包括:(a) 在有机溶剂中制备 0, 0- 二甲基二硫代磷酸溶液, 有机溶剂选自甲苯、二甲苯和苯组成的组;(b) 将 0, 0- 二甲基二硫代磷酸萃取到水中, 得到其水溶液;(c) 该水溶液与马来酸二乙酯反应以形成马拉硫磷; 以及 (d) 用含硫试剂处理步骤 (c) 得到的马拉硫磷, 其中含硫试剂的 pH 小于约 7. 0。本发明还涉及一种组合物, 包括大于 98. 5% 的马拉硫磷、小于 0. 1% 的 MeOOSPO、小于 0. 1% 的 MeOSSPO、小于 0. 2% 的 MeOOSPS、小于 0. 3% 的马拉硫磷羧酸以及小于 0. 1% 的异马拉硫磷。该方法制备的马拉硫磷贮存稳定。

1. 一种制备马拉硫磷的方法,包括以下步骤:
  - (a) 在有机溶剂中制备 0, 0- 二甲基二硫代磷酸溶液,所述有机溶剂选自甲苯、二甲苯和苯组成的组;
  - (b) 将所述 0, 0- 二甲基二硫代磷酸萃取到水中,得到所述 0, 0- 二甲基二硫代磷酸的水溶液;
  - (c) 所述 0, 0- 二甲基二硫代磷酸水溶液与马来酸二乙酯反应以形成马拉硫磷;以及
  - (d) 用含硫试剂处理从步骤 (c) 中得到的所述马拉硫磷,其中所述含硫试剂的 pH 小于约 7.0。
2. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述有机溶剂是甲苯。
3. 根据权利要求 1 所述的方法,其中步骤 (a) 中的 0, 0- 二甲基二硫代磷酸可通过以下步骤制备,所述步骤包含:
  - (i) 向甲苯中加入五硫化二磷 ( $P_2S_5$ ) 以形成悬浮液;
  - (ii) 将所述悬浮液加热到约  $60^{\circ}C$ ;
  - (iii) 向所述悬浮液中加入甲醇;
  - (iv) 在加入甲醇后搅拌所述悬浮液至少约 1 小时,同时将所述悬浮液的温度保持在约  $55^{\circ}C$  至约  $60^{\circ}C$ ;
  - (v) 在冷却到约  $18^{\circ}C$  至  $25^{\circ}C$  之后过滤从所述步骤 (iv) 中得到的所述悬浮液;以及
  - (vi) 将从所述步骤 (v) 中得到的所述悬浮液进行真空蒸馏。
4. 根据权利要求 1 所述的方法,还包括在用所述含硫试剂处理后从步骤 (d) 分离所述马拉硫磷。
5. 根据权利要求 1 所述的方法,其中步骤 (b) 中水与 0, 0- 二甲基二硫代磷酸的比例是约 1 : 1 至约 10 : 1 (w/w)。
6. 根据权利要求 5 所述的方法,其中水与 0, 0- 二甲基二硫代磷酸的比例是约 3 : 1 (w/w)。
7. 根据权利要求 1 所述的方法,其中在步骤 (a) 中所述 0, 0- 二甲基二硫代磷酸溶液在步骤 (b) 中萃取入水中之前被过滤。
8. 根据权利要求 1 所述的方法,其中在步骤 (a) 中所述 0, 0- 二甲基二硫代磷酸溶液在步骤 (b) 中萃取入水中之前被蒸馏。
9. 根据权利要求 1 所述的方法,其中在步骤 (c) 中所述马来酸二乙酯与 0, 0- 二甲基二硫代磷酸的摩尔比是约 1 : 1 至约 2 : 1。
10. 根据权利要求 9 所述的方法,其中在步骤 (c) 中所述马来酸二乙酯与 0, 0- 二甲基二硫代磷酸的摩尔比是约 1 : 1。
11. 根据权利要求 1 所述的方法,其中在所述 0, 0- 二甲基二硫代磷酸水溶液与所述马来酸二乙酯溶液的反应过程中将聚合抑制剂加入到步骤 (c) 中。
12. 根据权利要求 10 所述的方法,其中所述马来酸二乙酯与所述聚合抑制剂的摩尔比是约 50 : 1 至约 500 : 1。
13. 根据权利要求 12 所述的方法,其中所述马来酸二乙酯与聚合抑制剂的摩尔比是约 300 : 1。
14. 根据权利要求 11 所述的方法,其中所述聚合抑制剂是氢醌。

15. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述含硫试剂选自碱金属亚硫酸氢盐和碱土金属亚硫酸氢盐组成的组。

16. 根据权利要求 15 所述的方法,其中所述含硫试剂是亚硫酸氢钠。

17. 根据权利要求 16 所述的方法,其中所述含硫试剂包括 pH 值从约 6.1 至约 6.3 的 20% 的亚硫酸氢钠溶液。

18. 根据权利要求 17 所述的方法,其中步骤 (d) 中的所述马拉硫磷用所述 20% 的亚硫酸氢钠溶液处理约 2 小时。

19. 根据权利要求 18 所述的方法,还包括以下步骤:

(e) 在用所述 20% 的亚硫酸氢钠溶液处理后用水清洗步骤 (d) 中的所述马拉硫磷;

(f) 用 5% 的 NaOH 溶液清洗步骤 (e) 中的所述马拉硫磷;以及,

(g) 用水清洗步骤 (f) 中的所述马拉硫磷至少两次。

20. 根据权利要求 19 所述的方法,还进一步包括以下步骤:

(h) 检测从步骤 (g) 中得到的所述马拉硫磷中的至少一种杂质的存在,所述杂质选自 MeOOSPS、马拉氧磷、富马酸二乙酯、二甲基马拉硫磷、甲基马拉硫磷、异马拉硫磷和 0,0-甲基,乙基-S-(1,2-二羰基乙氧基)乙基二硫代磷酸酯及其组合组成的组;

(i) 检测马拉硫磷的纯度;

(j) 如果所述步骤 (g) 的马拉硫磷含有大于约 5.0% (w/w) 的富马酸二乙酯,则重复步骤 (e) 至 (i);以及,

(k) 分离所述马拉硫磷。

21. 一种进一步纯化从权利要求 19 得到的马拉硫磷的方法,还包括以下步骤:

(l) 向所述马拉硫磷中加入水;

(m) 将步骤 (k) 得到的所述马拉硫磷进行共沸蒸馏;

(n) 重复步骤 (l) 至 (m) 至少一次;以及

(o) 分离所述马拉硫磷。

22. 根据权利要求 21 所述的方法,其中步骤 (l) 中所述水与马拉硫磷的比例为从约 2 : 1 (w/w) 至约 10 : 1 (w/w)。

23. 根据权利要求 22 所述的方法,其中步骤 (l) 中所述水与马拉硫磷的比例为约 3 : 1 (w/w)。

24. 根据权利要求 21 所述的方法,还进一步包括以下步骤:

(p) 检测从步骤 (o) 中得到的所述马拉硫磷中的至少一种杂质的存在,所述杂质选自 MeOOSPO、MeOSSPO、马拉氧磷、MeOOSPS、富马酸二乙酯、二甲基马拉硫磷、甲基马拉硫磷、0,0-甲基,乙基-S-(1,2-二羰基乙氧基)乙基二硫代磷酸酯、二硫代丁二酸四乙基酯、异马拉硫磷、马拉硫磷羧酸、丁二酸巯基酯、硫代二丁二酸四乙基酯及其组合组成的组;

(q) 检测马拉硫磷的纯度;以及

(r) 如果步骤 (o) 中所述马拉硫磷含有大于约 0.2% (w/w) 的 MeOOSPS、大于约 0.1% (w/w) 的马拉氧磷、大于约 0.2% (w/w) 的富马酸二乙酯、大于约 0.2% (w/w) 的二甲基马拉硫磷、大于约 0.3% (w/w) 的甲基马拉硫磷、大于约 0.1% (w/w) 的异马拉硫磷,或小于约 98.5% (w/w) 的马拉硫磷,则重复步骤 (l) 至 (o)。

25. 一种组合物,包括大于约 98.5% (w/w) 的马拉硫磷、小于约 0.1% (w/w) 的

MeOOSPO、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPO、小于约 0.2% (w/w) 的 MeOOSPS、小于约 0.3% (w/w) 的马拉硫磷羧酸以及小于约 0.1% (w/w) 的异马拉硫磷。

26. 根据权利要求 25 所述的组合物,进一步包括大于约 98.5% (w/w) 的马拉硫磷、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOOSPO、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPO、小于约 0.2% (w/w) 的 MeOOSPS、小于约 0.3% (w/w) 的马拉硫磷羧酸以及小于约 0.02% (w/w) 的异马拉硫磷。

27. 根据权利要求 26 所述的组合物,进一步包括大于约 99.0% (w/w) 的马拉硫磷、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOOSPO、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPO 以及小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPS、0.03% (w/w) 的马拉硫磷羧酸以及小于约 0.02% (w/w) 的异马拉硫磷。

28. 根据权利要求 27 所述的组合物,进一步包括大于约 99.0% (w/w) 的马拉硫磷、小于约 0.04% (w/w) 的 MeOOSPO、小于约 0.02% (w/w) 的 MeOSSPO 以及小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPS、0.03% (w/w) 的马拉硫磷羧酸以及小于约 0.02% (w/w) 的异马拉硫磷。

29. 根据权利要求 25 所述的组合物,其中所述组合物在贮存后是稳定的。

30. 根据权利要求 29 所述的组合物,其中在 5℃ 下贮存 3 个月后,所述异马拉硫磷的量不超过约 0.1% (w/w)。

31. 根据权利要求 29 所述的组合物,其中在 25℃ 和 60% 的相对湿度下贮存 3 个月后,所述异马拉硫磷的量不超过约 0.1% (w/w)。

32. 根据权利要求 29 所述的组合物,其中在 30℃ 和 60% 的相对湿度下贮存 3 个月后,所述异马拉硫磷的量不超过约 0.1% (w/w)。

33. 根据权利要求 24 所述的方法制备的马拉硫磷,其中所述马拉硫磷包括大于约 98.5% (w/w) 的马拉硫磷、小于约 0.02% (w/w) 的异马拉硫磷、小于约 0.03% (w/w) 的马拉硫磷羧酸、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOOSPO、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPO 以及小于约 0.2% (w/w) 的 MeOSSPS。

34. 根据权利要求 33 所述的马拉硫磷,进一步包括大于约 99.0% (w/w) 的马拉硫磷、小于约 0.02% (w/w) 的异马拉硫磷、小于约 0.03% (w/w) 的马拉硫磷羧酸、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOOSPO、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPO 以及小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPS。

35. 根据权利要求 34 所述的马拉硫磷,进一步包括大于约 99.0% (w/w) 的马拉硫磷、小于约 0.02% (w/w) 的异马拉硫磷、小于约 0.03% (w/w) 的马拉硫磷羧酸、小于约 0.04% (w/w) 的 MeOOSPO、小于约 0.02% (w/w) 的 MeOSSPO 以及小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPS。

## 制备药用马拉硫磷的方法及其组合物

[0001] 本申请是申请日 2006 年 7 月 6 日、标题为“制备药用马拉硫磷的方法”申请号 200680024802.X 的分案申请。

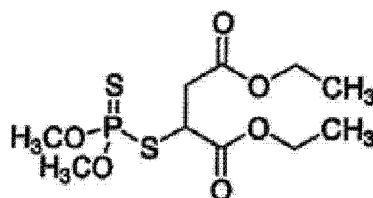
### 技术领域

[0002] 本发明涉及一种药用马拉硫磷的制备方法,并且涉及含有高度纯化形式的马拉硫磷的组合物,该组合物在贮存过程中是稳定的。

### 背景技术

[0003] 马拉硫磷〔(二甲氧基硫磷基)硫代〕丁二酸二乙酯;CAS#121-75-5)是一种抑制体内胆碱酯酶活性的有机磷酸酯杀虫剂。马拉硫磷具有以下化学结构:

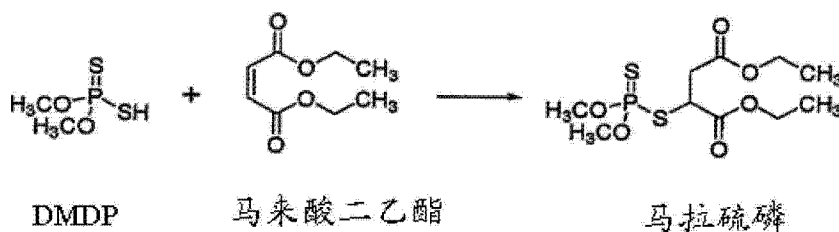
[0004]



马拉硫磷

[0005] 马拉硫磷可通过 0, 0- 二甲基二硫代磷酸 (DMDP) 与马来酸二乙酯反应制备 (美国专利号 2,578,652、2,879,284、3,403,201、3,463,841、3,470,272、4,367,180 和 4,681,964)。

[0006]



[0007] 在马拉硫磷制品中可找到多种杂质;这些杂质包括,0, 0, S- 三甲基二硫代磷酸酯 (MeOOSPS)、0, 0, S- 三甲基硫代磷酸酯 (MeOOSP0)、0, S, S- 三甲基二硫代磷酸酯 (MeOSSP0)、马拉氧磷、异马拉硫磷、富马酸二乙酯、甲基马拉硫磷、二甲基马拉硫磷、0, 0- 甲基, 乙基-S-(1,2- 二羰基乙氧基) 乙基-二硫代磷酸酯和四乙基二硫代二丁二酸酯 (参见, WHO Specifications and Evaluations for PublicHealth Pesticides: Malathion, World Health Organization, 2003)。这些杂质中的一些是在贮存过程中形成的分解产物,但是,这些杂质中的大多数是在合成过程中产生的并不想要的副产物。(Health RiskAssessment of Malathion Coproducts in Malthion-Bait Used forAgricultural Pest Eradication in Urban Areas, Report of the CaliforniaEnvironmental ProtectionAgency, 1997)。例如,在贮存过程中,马拉硫磷通过二聚作用可转变成异马拉硫磷,并且该异构化的程

度取决于具体的贮存条件。(Health Risk Assessment of Malathion Coproductsin Malthion-Bait Used for Agricultural Pest Eradication in Urban Areas, Report of the California Environmental Protection Agency,1997)。

[0008] 在升高的温度如 40℃ 下贮存马拉硫磷,显著地增加了马拉硫磷制品的毒性 (Umetsu et al., J.Agric.Food Chem., 25 :946-953(1977))。一方面,这种增强是由于贮存后异马拉硫磷增加。例如,在 40℃ 下贮存 6 个月后,异马拉硫磷的含量从 0.2% 增加到 0.45%,同时如测定的小鼠 LD<sub>50</sub>,毒性增加 35% (Umetsu et al., J.Agric.Food Chem., 25 : 946-953(1977))。因为即使小量的或痕量的马拉硫磷杂质如异马拉硫磷已经显示出很高的毒性,所以在任何马拉硫磷制品中这些杂质的存在,但尤其是开发药用马拉硫磷制品,应该尽可能多地减少这些杂质的存在。而且,已知在贮存过程中马拉硫磷分解成毒性副产物,所以也期望制备在贮存过程中稳定的马拉硫磷。

[0009] 许多这些马拉硫磷杂质已经发现具有毒性。MeOOSPO 和 MeOSSPO 可引起肝损伤 (Keadtisuke et al., Toxicology Letters52 :35-46(1990)),或免疫抑制 (Rodgers et al., Immunopharmacology17 :131-140(1989))。异马拉硫磷已经表现出在消灭昆虫的过程中在喷雾后可引起人死亡 (Aldridge et al., Archives Toxicology 42 :95-106(1979))。异马拉硫磷的毒性是由其抑制乙酰胆碱酯酶的能力而引起的;事实上,与马拉硫磷相比,异马拉硫磷的抗乙酰胆碱酯酶活性是约 1000 倍。(Berkman et al.Synthesis of Chiral Malathion andMalathion, Terahedron Letters 33(11) :1415-1418(1992))。0, 0- 甲基,乙基 -S-(1,2- 二巯基乙氧基) 乙基 - 二硫代磷酸酯、异马拉硫磷和 MeOOSPO 都表现出肺毒性并且可引起缺氧导致的死亡。(Imamura et al., Pharmacology and Therapeutics 38(3) :419-427(1988))。马拉氧磷抑制胆碱酯酶。(Umetsu et al., J.Agric.Food Chem., 25 :946-953(1977))。富马酸二乙酯可引起接触性荨麻疹。(Maibach, ContactDermatitis 12(3) :139-140(1985))。马拉硫磷的物理特性使得利用传统的方法除去杂质很困难。例如,因为马拉硫磷在环境稳定下是液体的(熔点 = 2.9℃),很难结晶。马拉硫磷还具有高沸点(156-157℃),因此,蒸馏也成问题,尤其是马拉硫磷在升高的温度下是不稳定的。

[0010] 我们已经开发了一种用于合成和纯化药用马拉硫磷的新方法。由本发明的方法制备的马拉硫磷与其它市售的目前作为药用目的使用的马拉硫磷制品相比,毒性杂质如异马拉硫磷的水平明显降低。而且,因为已知马拉硫磷是不稳定的,已知毒性杂质如异马拉硫磷的水平是随着时间而增长的,所以需要开发一种稳定形式的马拉硫磷。本发明的马拉硫磷是贮存稳定的,也就是即使在升高的温度和湿度下贮存后,毒性杂质的水平也没有显著提高。

## 发明内容

[0011] 本发明的方法提供了用于制备马拉硫磷的工艺,包括以下步骤:(a) 在一种有机溶剂中制备 0, 0- 二甲基二硫代磷酸溶液,该有机溶剂选自由甲苯、二甲苯和苯组成的组;(b) 将 0, 0- 二甲基二硫代磷酸萃取到水中,得到 0, 0- 二甲基二硫代磷酸的水溶液;(c) 0, 0- 二甲基二硫代磷酸的水溶液与马来酸二乙酯反应生成马拉硫磷;以及(d) 用含硫试剂(sulfur reagent)处理从步骤(c)中得到的马拉硫磷,其中含硫试剂的 pH 小于约 7.0。2。在一个实施例中,有机溶剂是甲苯。

[0012] 步骤 (a) 中的 0,0-二甲基二硫代磷酸可由以下步骤制备,所述步骤包括 (i) 将五硫化二磷 ( $P_2S_5$ ) 加入到甲苯中以形成悬浮液;(ii) 将该悬浮液加热到约  $60^{\circ}\text{C}$ ;(iii) 向悬浮液中加入甲醇;(iv) 加入甲醇后搅拌该悬浮液至少约 1 小时,同时将悬浮液的温度保持在约  $55^{\circ}\text{C}$  至约  $60^{\circ}\text{C}$ ;(v) 在冷却到约  $18^{\circ}\text{C}$  至约  $25^{\circ}\text{C}$  后将从步骤 (iv) 中得到的悬浮液过滤;以及 (vi) 将从步骤 (v) 中得到的悬浮液进行真空蒸馏。

[0013] 用含硫试剂处理后步骤 (d) 中的马拉硫磷可被分离出来。步骤 (b) 中水与 0,0-二甲基二硫代磷酸的比例可以是约 1 : 1 至约 10 : 1 (w/w)。在一个实施例中,水与 0,0-二甲基二硫代磷酸的比例是约 3 : 1 (w/w)。

[0014] 在步骤 (b) 萃取到水中之前,可以过滤步骤 (a) 中的 0,0-二甲基二硫代磷酸溶液。可以替代地,在步骤 (b) 萃取到水中之前,蒸馏步骤 (a) 中的 0,0-二甲基二硫代磷酸溶液。

[0015] 在一个实施例中,步骤 (c) 中马来酸二乙酯与 0,0-二甲基二硫代磷酸的摩尔比是约 1 : 1 至约 2 : 1。在另一实施例中,在步骤 (c) 中马来酸二乙酯与 0,0-二甲基二硫代磷酸的摩尔比是约 1 : 1。

[0016] 在 0,0-二甲基二硫代磷酸水溶液与马来酸二乙酯溶液反应的过程中,可将聚合抑制剂加入到步骤 (c) 中。马来酸二乙酯与聚合抑制剂的摩尔比可以是约 50 : 1 至约 500 : 1。在一个实施例中,马来酸二乙酯与聚合抑制剂的摩尔比是约 300 : 1。该聚合抑制剂可以是氢醌。

[0017] 含硫试剂选自由碱金属亚硫酸氢盐和碱土金属亚硫酸氢盐组成的组。在一个实施例中,该含硫试剂是亚硫酸氢钠。在另一实施例中,该含硫试剂包括 pH 从约 6.1 至约 6.3 的 20% 的亚硫酸氢钠溶液。步骤 (d) 中的马拉硫磷可以用 20% 的亚硫酸氢钠溶液处理约 2 小时。

[0018] 用 20% 的亚硫酸氢钠溶液处理后,马拉硫磷可用水、5% 的 NaOH 溶液并且至少用水再清洗两次。在用这些溶液清洗后,检测马拉硫磷中至少一种杂质的存在,该杂质选自由 MeOOSPS、马拉氧磷、富马酸二乙酯、二甲基马拉硫磷、甲基马拉硫磷、异马拉硫磷和 0,0-甲基,乙基-S-(1,2-二羰基乙氧基)乙基-二硫代磷酸酯及其组合组成的组。此外,检测马拉硫磷的纯度。如果步骤中的马拉硫磷含有大于约 5.0% (w/w) 的富马酸二乙酯,如上所讨论的,在分离该马拉硫磷之前,可以重复用水、NaOH 并再次用水清洗的清洗步骤。

[0019] 如上制备的马拉硫磷可通过以下步骤进一步纯化:(1) 将水加入到马拉硫磷中;(m) 将步骤 (k) 得到的马拉硫磷进行共沸蒸馏;(n) 重复步骤 (1) 至 (m) 至少一 (1) 次;以及 (o) 分离该马拉硫磷。在步骤 (1) 中水与马拉硫磷的比例范围是从约 2 : 1 (w/w) 至约 10 : 1 (w/w)。在一个实施例中,在步骤 (1) 中水与马拉硫磷的比例是约 3 : 1 (w/w)。在共沸蒸馏后,检测马拉硫磷中至少一种杂质的存在,该杂质选自由 MeOOSPO、MeOSSPO、马拉氧磷、MeOOSPS、富马酸二乙酯、二甲基马拉硫磷、甲基马拉硫磷、0,0-甲基,乙基-S-(1,2-二羰基乙氧基)乙基-二硫代磷酸酯、二硫代丁二酸四乙基酯、异马拉硫磷、马拉硫磷羧酸、硫基丁二酸酯、硫代二丁二酸四乙基酯及其组合组成的组。此外,对马拉硫磷进行纯度检测。如果马拉硫磷具有大于约 0.2% (w/w) 的 MeOOSPS、大于约 0.1% (w/w) 的马拉氧磷、大于约 0.2% (w/w) 的富马酸二乙酯、大于约 0.2% (w/w) 的二甲基马拉硫磷,大于约 0.3% (w/w) 的甲基马拉硫磷、大于约 0.1% (w/w) 的异马拉硫磷、或具有小于约 98.5% (w/w) 的马拉硫

磷,则重复步骤 (1) 至 (o)。

[0020] 由本发明的方法制备的马拉硫磷包括以下实施例:(i) 大于约 98.5% (w/w) 的马拉硫磷、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOOSPO、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPO、小于约 0.2% (w/w) 的 MeOOSPS、小于约 0.3% (w/w) 的马拉硫磷羧酸以及小于约 0.1% (w/w) 的异马拉硫磷;(ii) 大于约 98.5% (w/w) 的马拉硫磷、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOOSPO、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPO、小于约 0.2% (w/w) 的 MeOOSPS、小于约 0.3% (w/w) 的马拉硫磷羧酸和小于约 0.02% (w/w) 的异马拉硫磷;(iii) 小于约 99.0% (w/w) 的马拉硫磷、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOOSPO、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPO 以及小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPS、0.03% (w/w) 的马拉硫磷羧酸以及小于约 0.02% (w/w) 的异马拉硫磷;以及 (iv) 大于约 99.0% (w/w) 的马拉硫磷、小于约 0.04% (w/w) 的 MeOOSPO、小于约 0.02% (w/w) 的 MeOSSPO 以及小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPS、0.03% (w/w) 的马拉硫磷羧酸以及小于约 0.02% (w/w) 的异马拉硫磷。

[0021] 由本发明的方法制备的马拉硫磷在贮存之后是稳定的。具体地,在 5℃ 下贮存 3 个月,异马拉硫磷的量不多于约 0.1% (w/w)。在 25℃ 和 60% 的相对湿度下贮存 3 个月,异马拉硫磷的量不多于约 0.1% (w/w)。在 30℃ 和 60% 的相对湿度下贮存 3 个月,异马拉硫磷的量不多于约 0.1% (w/w)。

### 具体实施方式

[0022] 本发明提供了制备可用于药物制剂的高度纯化形式的马拉硫磷的方法。马拉硫磷通过以下步骤合成:(a) 在有机溶剂中制备 0,0-二甲基二硫代磷酸溶液;(b) 将 0,0-二甲基二硫代磷酸萃取到水中,得到 0,0-二甲基二硫代磷酸的水溶液;(c) 0,0-二甲基二硫代磷酸的水溶液与马来酸二乙酯反应以生成马拉硫磷;以及 (d) 用含硫试剂处理从步骤 (c) 得到的马拉硫磷,其中该含硫试剂的 pH 值小于约 7.0。

[0023] 步骤 (a) 中的 0,0-二甲基二硫代磷酸可通过以下步骤制备:(i) 将硫化磷悬浮在有机溶剂中;(ii) 将甲醇逐滴加入到硫化磷悬浮液中;(iii) 搅拌该硫化磷悬浮液。硫化磷是化学式为  $P_xS_y$  的化合物,其中 X 和 Y 都是整数。硫化磷的实例包括化合物如五硫化二磷 ( $P_2S_5$ )、七硫化四磷 ( $P_4S_7$ ) 以及这些化合物的混合物。五硫化二磷通常以二聚体、十硫化四磷 ( $P_4S_{10}$ ) (术语五硫化二磷,包括该二聚体,十硫化四磷) 存在。在一个实施例中,硫化磷是五硫化二磷。任何合适的有机溶剂可用于悬浮硫化磷。可以使用合适的有机溶剂如甲苯、二甲苯和苯及其混合物。在一个优选实施例中,甲苯作为有机溶剂用于混悬硫化磷。

[0024] 因为高温引起 0,0-二甲基二硫代磷酸的分解以及不希望的副产物的形成,所以硫化磷悬浮液搅拌步骤(上述步骤 (iii)) 的温度被控制。搅拌可进行约 1 小时,同时在氮气 ( $N_2$ ) 鼓泡下保持反应器的温度在约 55℃ 至约 65℃。搅拌后,反应混合物冷却到约 18℃ 至约 25℃ 的温度。

[0025] 萃取到水中之前,在有机溶液中的 0,0-二甲基二硫代磷酸溶液可进一步通过过滤、蒸馏或蒸发而被纯化。过滤除去了不溶性的杂质如任何未反应的固体,如  $P_2S_5$ 。除去不溶性杂质的其它合适的方法,包括倾析和离心。

[0026] 有机溶液中 0,0-二甲基二硫代磷酸溶液可通过蒸馏而被浓缩或纯化。优选地,有机溶液中 0,0-二甲基二硫代磷酸溶液由共沸蒸馏而被蒸馏。蒸馏(如共沸蒸馏)的优点

是它可有效地除去 MeOOSPS, 而不产生马拉硫磷的异构化产物和异马拉硫磷。蒸馏可以在真空中进行。蒸馏除去了挥发性杂质如硫化氢 ( $H_2S$ ) 以及任何未反应的甲醇或其它有机溶剂如甲苯。如果硫化氢存在于 0,0- 二甲基二硫代磷酸, 则它可与马来酸二乙酯或富马酸二乙酯反应生成 2- 巯基丁二酸二乙基酯。2- 巯基丁二酸二乙基酯可被氧化生成二聚物杂质, 二硫代二丁二酸四乙基酯, 它从任何马拉硫磷制品中都很难除去。

[0027] 蒸馏 (如共沸蒸馏) 的另一优点是有效地除去了未反应的甲醇。如果未反应的甲醇作为杂质存在于 0,0- 二甲基二硫代磷酸中, 它可与马拉硫磷反应生成甲醇分解和酯交换杂质。甲醇分解杂质包括: 0,0,0- 三甲基硫代磷酸 (MeOOSPS) 和 0,0,S- 三甲基硫代磷酸 (MeOOSPO)。酯交换杂质包括: [(二甲氧基硫磷基) 硫代] 丁二酸二甲酯 (二甲基马来硫磷)、1- 羰基乙氧基 -2- 羰基甲氧基 -1-[(二甲氧基硫磷基) 硫代] 乙烷、和 2- 羰基乙氧基 -1- 羰基甲氧基 -1-[(二甲氧基硫磷基) 硫代] 乙烷; 1- 羰基乙氧基 -2- 羰基甲氧基 -1-[(二甲氧基硫磷基) 硫代] 乙烷, 和 2- 羰基乙氧基 -1- 羰基甲氧基 -1-[(二甲氧基硫磷基) 硫代] 乙烷全部被称为甲基马拉硫磷。这些杂质很难从马拉硫磷制品中除去。

[0028] 蒸馏步骤的另一优点是除去了溶解的  $H_2S$ 。如果存在  $H_2S$ , 则它会与马来酸二乙酯反应生成 2- 巯基丁二酸二乙基酯并且二聚化生成四乙基二硫代二丁二酸酯。

[0029] 通常, 蒸馏步骤除去了一部分的有机溶剂如甲苯、二甲苯或苯, 以及其他挥发性的杂质如甲醇。蒸馏后, 溶液中 0,0- 二甲基二硫代磷酸的浓度是约 30% (w/w) 至约 70% (w/w); 更优选地, 溶液中 0,0- 二甲基二硫代磷酸的浓度可以是约 50% (w/w)。优选地, 可在减压如小于约 1 个大气压 (1 个大气压 = 760mm Hg) 下进行蒸馏。在另一实施例中, 蒸馏在约 0.5 个大气压下进行, 同时在第三个实施例中, 蒸馏在约 0.2 个大气压下进行。

[0030] 在蒸馏、蒸发或过滤步骤后, 将有机溶剂中的 0,0- 二甲基二硫代磷酸萃取到水中, 得到了 0,0- 二甲基二硫代磷酸的水溶液。本发明的一个优点是将 0,0- 二甲基二硫代磷酸萃取到水中显著地除去了 MeOOSPS。在用水萃取之前利用气相色谱对有机溶剂中 0,0- 二甲基二硫代磷酸的分析表明 0,0- 二甲基二硫代磷酸被 0,0,S- 三甲基二硫代磷酸酯 (MeOOSPS) 以及其他杂质如 0,0,S- 三甲基硫代磷酸酯 (MeOOSPO) 污染达到约 25-30% (w/w), 用水萃取后, 气相色谱分析表明在 0,0- 二甲基二硫代磷酸水溶液中 0,0,S- 三甲基二硫代磷酸酯 (MeOOSPS) 的量减少到约 5-6% (w/w) 或更少。

[0031] 任何合适量的水都可用于萃取。水与 0,0- 二甲基二硫代磷酸的有机溶剂的比例可以从约 1 : 1 至约 10 : 1 (w/w); 优选地, 该比例是约 3 : 1 (w/w)。更优选地, 有机溶剂中 0,0- 二甲基二硫代磷酸溶液与水的比例是约 1 : 1。水与有机溶剂中 0,0- 二甲基二硫代磷酸溶液的混合产生了含有两层 (一个有机层和一个水层) 的反应混合物。有机层和水层分离后, 现在含有 0,0- 二甲基二硫代磷酸的水层可以用甲苯清洗。0,0- 二甲基二硫代磷酸的水溶液然后与马来酸二乙酯反应生成马拉硫磷。富马酸二乙酯也可用于与 0,0- 二甲基二硫代磷酸的水溶液反应生成马拉硫磷的反应中。因为马来酸二乙酯与水性溶剂例如水是不容易混溶的, 所以反应是在非均相中进行的, 两层混合物包括水层 (0,0- 二甲基二硫代磷酸的水溶液) 和有机层 (马来酸二乙酯或富马酸二乙酯)。该两相混合物可进行机械混合。在偏下或有机相收集马来硫磷。上述反应可通过将马来酸二乙酯直接加入到 0,0- 二甲基二硫代磷酸的水溶液中而完成。本发明的一个优点是不需要以浓缩的形式分离 0,0- 二甲基二硫代磷酸。0,0- 二甲基二硫代磷酸是有毒的, 因此, 直接加入避免了在生成

马拉硫磷过程中分离任何毒性化合物的必要。

[0032] 为了使马拉硫磷的产量和纯度最大化, 0, 0- 二甲基二硫代磷酸水溶液与马来酸二乙酯反应的条件例如反应温度、反应时间、反应物比例, 可由本领域的普通技术人员优化。在一个实施例中, 马来酸二乙酯与 0, 0- 二甲基二硫代磷酸的摩尔比可从约 1 : 1 至约 2 : 1。反应温度可在约 25℃至约 70℃的范围; 更优选地, 反应温度是约 40℃至约 65℃; 更加优选地, 反应温度是约 53℃。反应时间可以改变例如 (i) 从约两 (2) 至约十二 (12) 小时, (ii) 从约五 (5) 至约十 (10) 小时, 或 (iii) 约八 (8) 小时。反应可在 N<sub>2</sub> 气下进行。反应完成后, 两种溶液, 0, 0- 二甲基二硫代磷酸水溶液和马来酸二乙酯, 被冷却到约 18℃至约 25℃温度, 分离该溶液并且含有马拉硫磷的马来酸二乙酯至少用水再洗两次。

[0033] 在 0, 0- 二甲基二硫代磷酸的水溶液与马来酸二乙酯的反应过程中可能会生成富马酸二乙酯。为了减少马来酸二乙酯和富马酸二乙酯的聚合, 反应可在聚合抑制剂存在的情况下进行。合适的聚合抑制剂包括氢醌。马来酸二乙酯与聚合抑制剂的摩尔比是约 50 : 1 至约 500 : 1。例如, 在一个实施例中, 马来酸二乙酯与聚合抑制剂的摩尔比是约 300 : 1。

[0034] 为了更进一步纯化马拉硫磷, 含有马拉硫磷的马来酸二乙酯可用含硫溶液 (sulfur solution) 处理。本发明的发明人意外地发现 pH 小于约 7 的含硫溶液可有效地消除二聚体杂质的形成。含硫溶液的 pH 在从约 6.0 至约 7.0 内变化。该含硫溶液可以是例如一种 (i) 亚硫酸氢盐, 如亚硫酸氢钠、焦亚硫酸氢钠、硫酸氢镁或亚硫酸氢铵, (ii) 亚硫酸盐, 如亚硫酸钠、亚硫酸钾、亚硫酸镁或亚硫酸铵, 或 (iii) 硫化物, 如硫化钠、硫化钾、硫化钙、硫化铵或二硫化铵。该酸性的, 含硫水溶液可以是以任何合适的方式制备的 (注意, 亚硫酸氢盐的水溶液本来就是酸性的); 制备亚硫酸氢盐的酸性水溶液的合适方法包括将亚硫酸氢盐溶解在水中。亚硫酸盐和硫化物的水溶液本来是碱性的。因此, 亚硫酸盐和硫化物的酸性水溶液可通过将亚硫酸盐溶解在水中, 然后加入酸例如盐酸或硫酸将 pH 降低到 7.0 以下而制成。酸性含硫溶液的优点是它有效地提高了马拉硫磷的纯度。使用酸性含硫溶液来进一步纯化马拉硫磷的重要性被以下的事实证明, 该事实是如果马拉硫磷用亚硫酸盐和硫化物的碱性溶液 (即 pH > 7.0) 处理, 发现得到的马拉硫磷被大于 0.2% (w/w) 的二硫代二丁二酸四乙基酯污染。相反, 如果该含硫水溶液的 pH 是酸性的, 即 pH 低于 7.0, 该生成的马拉硫磷含有小于 0.2% (w/w) 的二硫代二丁二酸四乙基酯。在 pH 7-12, 用含硫溶液处理马拉硫磷可能会引起硫代二丁二酸四乙基酯杂质的生成。使用酸性含硫溶液的另一优点是避免了马拉硫磷的分解, 已知马拉硫磷的分解在碱性 pH 下更可能发生。(参见例如 Cotham WE Jr., et al. Food Chem. 37 :824-828 (1989))。

[0035] 在一个实施例中, 用 20% (w/w) 的亚硫酸氢钠溶液 (pH 从约 6.1 至约 6.3) 处理含有马拉硫磷的马来酸二乙酯。将马来酸二乙酯与 20% (w/w) 的亚硫酸氢钠溶液在约 60℃下混合 2 小时后, 将包含这两种溶液即马来酸二乙酯和 20% (w/w) 的亚硫酸氢钠的混合物冷却到约 18℃至约 25℃, 然后将这两种溶液分离。随后马来酸二乙酯用水洗, 将这两种溶液即马来酸二乙酯和水分离; 然后马来酸二乙酯用 5% (w/w) 的 NaOH 洗并且分离该溶液。用 NaOH 洗后, 如上述马来酸二乙酯可至少用水再清洗两 (2) 次。

[0036] 在这个纯化阶段后, 马拉硫磷的纯度可用高压液相色谱 (HPLC) 进行分析。检测马拉硫磷的纯度和检测存在的杂质的其他技术包括, 气相色谱 (GC) 和核磁共振 (NMR) 光

谱 (WHO Specifications and Evaluations for Public Health Pesticides: Malathion, World Health Organization, 2003)。利用这些分析技术, 可以检测是否存在以下杂质: MeOOSPS、马拉氧磷、富马酸二乙酯、二甲基马拉硫磷、甲基马拉硫磷、异马拉硫磷、O, O- 甲基, 乙基 -S-(1, 2- 二巯基乙氧基) 乙基二硫代磷酸酯、O, O- 甲基, 乙基 -S-(1, 2- 二巯基乙氧基) 乙基二硫代磷酸酯; 另外, 可使用这一套方法测定任何其他可检测杂质的存在。

[0037] 如果马拉硫磷含有大于 5% (w/w) 的富马酸二乙酯, 如上述则该马拉硫磷再一次用含硫溶液 (pH 6.0-7.0)、5% (w/w) NaOH 和水按顺序处理。在再次处理后, 对得到的马拉硫磷利用 HPLC 同时分析马拉硫磷的纯度和以上列出的任何杂质的存在。

[0038] 在纯化这个阶段, 马拉硫磷可能表现以下的纯度 / 杂质特性: (i) 大于约 98.5% (w/w) 的马拉硫磷; (ii) 小于约 5.0% (w/w) 的富马酸二乙酯, 以及 (iii) 小于约 0.1% (w/w) 的异马拉硫磷。在一个优选实施例中, 马拉硫磷可能具有以下纯度 / 杂质特性: (i) 大于约 98.5% (w/w) 的马拉硫磷; (ii) 小于约 0.2% (w/w) 的 MeOOSPS, (iii) 小于约 0.1% (w/w) 的马拉氧磷, (iv) 小于约 0.2% (w/w) 的富马酸二乙酯, (v) 小于约 0.3% (w/w) 的甲基马拉氧磷, (vi) 小于约 0.1% (w/w) 的异马拉氧磷, 以及 (vii) 小于约 0.3% (w/w) 的 O, O- 甲基, 乙基 -S-(1, 2- 二巯基乙氧基) 乙基二硫代磷酸酯。另外, 在这个纯化阶段, 在马拉硫磷中不存在多于约 0.1% (w/w) 的任何其他可检测杂质。

[0039] 为了进一步降低杂质的水平, 由以上方法制备的马拉硫磷或从由另外的合成路线获得的马拉硫磷可与水一起蒸馏而被进一步纯化。这个共沸蒸馏方法的优点是它有效地除去了 MeOOSPS, 而不产生马拉硫磷的异构化产物 (即异马拉硫磷)。此外, 与气提或快速蒸馏相比, 共沸蒸馏是一个更简单的方法。它也更有效地除去了 MeOOSPS。在一个实施例中, 水和马拉硫磷的比例是 3 : 1 (w/w)。第一次蒸馏完成后, 加入水, 并且共沸蒸馏至少再重复一次。再一次, 在纯化阶段中水和马拉硫磷的比例可以是约 3 : 1 (w/w)。只要存在相对过量的水, 水和马拉硫磷的比例在从约 2 : 1 至大于约 10 : 1 (w/w) 的范围内变化。这些额外的纯化步骤之后, 加入水后进行共沸蒸馏, 马拉硫磷的纯度由 HPLC 检测。检测的杂质可包括, MeOOSPS、马拉氧磷、富马酸二乙酯、二甲基马拉硫磷、甲基马拉硫磷、异马拉硫磷、马拉硫磷羧酸以及任何其他可检测的杂质。如果 (i) MeOOSPS 大于约 0.2% (w/w), (ii) 马拉氧磷大于约 0.1% (w/w), (iii) 富马酸二乙酯大于约 0.2% (w/w), (iv) 二甲基马拉硫磷大于约 0.2% (w/w), (v) 甲基马拉硫磷大于约 0.3% (w/w), (vi) 异马拉硫磷大于约 0.1% (w/w), (vii) 任何其他单独可测杂质大于 0.1% (w/w), 或 (viii) 马拉硫磷小于约 98.5% (w/w), 然后, 如上所述将水加入到马拉硫磷中并且再次进行共沸蒸馏。然后第二次分析马拉硫磷的纯度 / 杂质特性。加入水进行共沸蒸馏可重复直到湿的马拉硫磷的纯度 / 杂质特性与以上列出的用于马拉硫磷纯度和用于各种杂质的 % (w/w) 的标准一致。

[0040] 在这个纯化阶段, 马拉硫磷可具有以下纯度 / 杂质特性:

[0041] (i) 马拉硫磷大于约 98.5% (w/w);

[0042] (ii) MeOOSPS 小于约 0.2% (w/w);

[0043] (iii) 马拉氧磷小于约 0.1% (w/w);

[0044] (iv) 富马酸二乙酯小于约 0.2% (w/w);

[0045] (v) 二甲基马拉硫磷小于约 0.2% (w/w);

[0046] (vi) 甲基马拉硫磷小于约 0.3% (w/w); 或,

[0047] (vii) 异马拉硫磷小于约 0.1% (w/w)。

[0048] 无水马拉硫磷可通过加入水后加热,然后在温度从约 35℃至约 45℃下共沸蒸馏,同时用空气鼓泡通过湿结块而获得。含水量可通过 Karl Fisher 方法监控。美国药典 <921>。当含水量降低到不超过 0.1% (w/w) 时,马拉硫磷被冷却并且被过滤以除去任何外来物质。过滤可通过玻璃纸。

[0049] 干燥后,可用 HPLC 对马拉硫磷进行马拉硫磷的纯度及各种杂质的存在的检测,各种杂质包括 MeOOSPO、MeOSSPO、马拉氧磷、MeOOSPS、富马酸二乙酯、二甲基马拉硫磷、甲基马拉硫磷、0,0- 甲基,乙基 -S-(1,2- 二羰基乙氧基) 乙基二硫代磷酸酯、二硫代丁二酸四乙基酯、异马拉硫磷、马拉硫磷羧酸如 0,0- 二甲基 -S-(1- 羧基 -2- 羧基乙氧基) 乙基二硫代磷酸酯或 0,0- 二甲基 -S-(1- 羧基 -2- 羧基) 乙基二硫代磷酸酯、巯基丁二酸酯以及硫代二丁二酸四乙基酯。针对杂质的 HPLC 检测可包括所有选自以上所列的杂质或仅是它们中的一些。另外,也可检测马拉硫磷中是否存在任何其他的可检测杂质。

[0050] 本发明所包含的马拉硫磷的各种实施例包括:(i) 大于约 98.5% (w/w) 的马拉硫磷、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOOSPO、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPO、小于约 0.2% (w/w) 的 MeOOSPS、小于约 0.3% (w/w) 的马拉硫磷羧酸和 / 或小于约 0.1% (w/w) 的异马拉硫磷;(ii) 大于约 98.5% (w/w) 的马拉硫磷、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOOSPO、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPO、小于约 0.2% (w/w) 的 MeOOSPS、小于约 0.3% (w/w) 的马拉硫磷羧酸和 / 或小于约 0.02% (w/w) 的异马拉硫磷;(iii) 大于约 99.0% (w/w) 的马拉硫磷、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOOSPO、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPO 和 / 或小于约 0.1% (w/w) 的 MeOOSPS、0.03% (w/w) 的马拉硫磷羧酸和小于约 0.02% (w/w) 的异马拉硫磷;以及 (iv) 大于约 99.0% (w/w) 的马拉硫磷、小于约 0.04% (w/w) 的 MeOOSPO、小于约 0.02% (w/w) 的 MeOSSPO 和 / 或小于约 0.1% (w/w) 的 MeOOSPS、0.3% (w/w) 的马拉硫磷羧酸和小于约 0.02% (w/w) 的异马拉硫磷。

[0051] 检测由本发明的方法制备的马拉硫磷的贮存稳定性。由本发明的方法制备的马拉硫磷在以下不同的温度和湿度条件下贮藏达三 (3) 个月。贮存条件如下:(i) 5℃ (ii) 25℃, 60% 的相对湿度以及 (iii) 30℃和 60% 的相对湿度。在贮存后用 HPLC 检测样品的纯度。贮存后,由本发明的方法制备的马拉硫磷关于异马拉硫磷和马拉硫磷的表现如下:(i) 在 5℃ 下贮存 3 个月后,异马拉硫磷少于约 0.1% (w/w),马拉硫磷大于 98.5% (w/w)。(ii) 在 25℃和 60% 的相对湿度下贮存 3 个月后,异马拉硫磷少于约 0.1% (w/w),马拉硫磷大于约 98.5% (w/w);以及 (iii) 在 30℃和 60% 的相对湿度下贮存 3 个月后,异马拉硫磷的量少于约 0.1% (w/w),马拉硫磷大于约 98.5% (w/w)。

[0052] 由本发明方法制备的马拉硫磷可用于制备马拉硫磷制品如 **Ovide<sup>®</sup>** 洗液和凝胶 (参见,美国专利申请号 PCT/US05/24643 和 24558)、洗液、乳剂或溶液。

[0053] 本发明将通过以下实施例进一步说明,但不受以下实施例的限制。

[0054] 实例 1:二甲基二硫代磷酸的制备

[0055] 在配备有机械搅拌器的 5-L 夹套玻璃反应器中混合五硫化二磷 (1.4kg) 和甲苯 (1.4L),得到的悬浮液在搅拌下加热到约 60℃。经四 (4) 小时十五 (15) 分钟逐滴加入甲醇 (1.1L),同时保持反应物质的温度在 67℃或更低。得到的气体 H<sub>2</sub>S 使用次氯酸钠 / 氢氧化钠水溶液吸收。在完成甲醇的加入后,该混合物在 55-65℃下再搅拌一 (1) 小时。

[0056] 混合物冷却到 22–30℃ 的温度,然后将混合物过滤以除去未反应的五硫化二磷。另外的甲苯 (0.3L) 加入到得到的过滤液中。混合物在真空 ( $\leq 200$  毫巴) 温度约 50–60℃ 下蒸馏以除去约 600mL 的甲苯。得到的浓缩物冷却到 22–30℃ 的温度并且加入水 (3kg)。该两相混合 20 分钟,然后分离这两项。水相用甲苯洗 (0.3L),水相再次被分离,以提供二甲基二硫代磷酸的水溶液 (约 4.22kg 含有约 1.22kg 的二甲基二硫代磷酸)。

[0057] 实例 2:马拉硫磷的制备

[0058] 将二甲基二硫代磷酸的溶液加入到马来酸二乙酯中 (二甲基二硫代磷酸与马来酸二乙酯的比例是 1–1.25kg : 1.2kg)。将氢醌 (约 3 克) 加入到该混合物中。含有两种分离溶液即马来酸二乙酯的有机溶液和二甲基二硫代磷酸的水溶液的混合物在氮气下 53℃ 下混合 8 小时。混合后,反应冷却到室温并且分离有机和水溶液。有机的或含有马拉硫磷的马来酸二乙酯溶液用水 (每次约 1 升) 清洗两 (2) 次。有机和水溶液被分离并且保留了马来酸二乙酯溶液中的马拉硫磷。这个反应的产量约是 1.5–1.9kg 马拉硫磷。

[0059] 实例 3:马拉硫磷的纯化

[0060] 含有马拉硫磷 (约 1.5–1.9kg) 的马来酸二乙酯溶液用 20% 亚硫酸氢钠溶液 (水的) (pH6.1–6.3) 约 4.6kg 在 60℃ 下处理 2 小时。混合物冷却到室温并且分离有机和水层。然后有机层用 0.5% 的 NaOH 溶液清洗。分离两层后,含有马拉硫磷的有机层用水 (每次清洗用约 1 升的水) 清洗两次以产生约 0.75–0.95kg 的马拉硫磷。这个阶段的马拉硫磷的纯度用 HPLC 测定。如果在马拉硫磷中出现大于 5% (w/w) 的富马酸二乙酯,则该物质再次用亚硫酸氢钠溶液和水处理。重复处理后,第二次分析马拉硫磷的纯度。这个再处理的步骤可以重复直到马拉硫磷的纯度特性与上述的富马酸二乙酯的减少一致。

[0061] 实例 4:纯化后对马拉硫磷的分析

[0062] 马拉硫磷的纯度和存在杂质的百分比由具有可变波长检测器的 HPLC 仪器测定。调整流动相组分和 / 或流动速率以满足色谱参数。对两个不同样品批次的马拉硫磷的 HPLC 分析结果示于表 I 中。

[0063] 表 I:对马拉硫磷的 HPLC 分析

| 分析物                                | 马拉硫磷 (%(w/w))(批次 A) | 马拉硫磷 (%(w/w))(批次 B) |
|------------------------------------|---------------------|---------------------|
| MeOOSPS                            | 0.12                | 0.14                |
| 马拉氧磷                               | <0.05               | <0.05               |
| 富马酸二乙酯                             | <0.01               | <0.01               |
| 二甲基马拉硫磷                            | <0.02               | <0.02               |
| 甲基马拉硫磷                             | 0.06                | 0.06                |
| 异马拉硫磷                              | <0.04               | <0.04               |
| O,O- 甲基, 乙基-S-(1,2-二羰基乙氧基)乙基二硫代磷酸酯 | 0.18                | 0.12                |
| 任何其他可检测的杂质                         | 0.10                | <0.04               |
| 马拉硫磷的纯度                            | 99.5                | 99.6                |

[0065] 实例 5 : 马拉硫磷的共沸蒸馏

[0066] 将水 (2.8kg) 加入到实施 4 描述的生成的马拉硫磷中, 并且得到的两相混合物在温度为约 35-50℃ 以及约 30-60 毫巴的压强下共沸蒸馏 4 天的时间。每间隔约一个小时向混合物中加入水以补充在这个时间段内由于共沸蒸馏而失去的量 (每次约 0.2-0.7L)。总数约为 34.2L 的水在这个过程中蒸馏出来。该两相混合物冷却到 22-30℃, 分离各相, 提供马拉硫磷 (0.84kg) (注意, 该马拉硫磷是湿的, 即含水)。

[0067] 获得的马拉硫磷的纯度使用 HPLC 测定; 得到的结果在表 II 中示出。

[0068] 表 II : 共沸蒸馏后对马拉硫磷的分析

[0069]

| 化合物     | 含量(%w/w)   |
|---------|------------|
| 富马酸二乙酯  | <0.01(LOD) |
| 异马拉硫磷   | 0.07       |
| MeOOSPS | 0.1        |
| 马拉氧磷    | <0.05(LOD) |
| 二甲基马拉硫磷 | <0.02(LOD) |
| 甲基马拉硫磷  | 0.06       |
| 马拉硫磷的纯度 | 99.5       |

[0070] 这些数据说明至少 97% (w/w) 的 MeOOSPS 从实例 3 得到的马拉硫磷中除去。这些数据还进一步地说明该纯化的马拉硫磷仅含有 0.07% (w/w) 的异马拉硫磷。

[0071] 实施 6 : 由本发明的方法制成的马拉硫磷样品批次的分析

[0072] 以下表 III 中列出了, 由本发明的方法制成的三种不同批次的马拉硫磷 (这些批次在表格中标识为 A、B 和 C) 干燥后用 HPLC 对马拉硫磷的纯度和以上列出的杂质的存在进行分析。作为比较, 以下的马拉硫磷样品被分析, 美国药典 (“USP”) 中的可药用的已批准的马拉硫磷以及从 Cheminova 中得到的用于药物制品的马拉硫磷 (在这里称为, Cheminova A/S, Thyboronvej 78DK-7673Harboore, Denmark)。这些样品即 USP 和 cheminova 的纯度, 与通过本发明的方法制备的马拉硫磷的纯度比较。分析结果示于表 III 中。

[0073] 表 III : 干燥后对通过本发明的方法制备的马拉硫磷进行 HPLC 分析并且与 USP 和 Cheminova<sup>\*\*\*</sup> 的马拉硫磷进行比较。

[0074]

| 批次  | 马<br>拉<br>硫<br>磷 | MeO<br>OSP<br>O | MeOSS<br>PO | 马拉氧磷  | MeO<br>OSP<br>S | 富<br>酸<br>乙<br>酯 | 马<br>二<br>酯 | 二<br>基<br>拉<br>磷 | 甲<br>马<br>硫<br>磷 | 甲<br>基<br>拉<br>磷 | O,O-甲<br>基,<br>乙基二<br>氧二<br>-S-(1,2-<br>碳基乙<br>基)乙基<br>硫代磷<br>酯 | 二<br>代<br>丁<br>酸<br>乙<br>酯 | 异<br>拉<br>磷 | 马<br>硫<br>羧<br>酸 | 拉<br>磷<br>酸<br>酯 | 硫<br>基<br>二<br>二<br>四<br>基<br>酯 | 代<br>丁<br>酸<br>乙<br>酯 |
|-----|------------------|-----------------|-------------|-------|-----------------|------------------|-------------|------------------|------------------|------------------|-----------------------------------------------------------------|----------------------------|-------------|------------------|------------------|---------------------------------|-----------------------|
| A   | 99.3             | <0.04           | <0.02       | <0.05 | 0.1             | <0.01            | <0.01       | <0.02            | 0.07             | 0.1              | 0.05                                                            | 0.05                       | <0.02       | <0.03            | 0.01             | ND                              | ND                    |
| B   | 99.2             | <0.04           | <0.02       | <0.05 | 0.1             | <0.01            | <0.01       | <0.02            | 0.07             | 0.1              | 0.06                                                            | 0.06                       | <0.02       | <0.03            | 0.01             | ND                              | ND                    |
| C   | 99.2             | <0.04           | <0.02       | <0.05 | 0.2             | <0.01            | <0.01       | <0.02            | 0.06             | 0.1              | 0.05                                                            | 0.05                       | <0.02       | <0.03            | 0.01             | ND                              | ND                    |
| USP |                  | <0.04           | 0.04        | <0.05 | 0.09            | 0.05             | 0.05        | <0.02            | 0.17             | 0.14             | <0.03                                                           | 0.27                       | 0.27        | 0.77             | 0.04             | ND                              | ND                    |
| I   |                  | 0.05            | <0.02       | <0.05 | 0.05            | 0.02             | 0.02        | <0.02            | 0.2              | -                | -                                                               | -                          | 0.2         | -                | -                | -                               | -                     |
| II  |                  | 0.05            | <0.02       | 0.07  | 0.06            | <0.02            | <0.02       | <0.02            | 0.1              | -                | -                                                               | -                          | 0.2         | -                | -                | -                               | -                     |
| III |                  | 0.06            | <0.02       | <0.05 | 0.04            | 0.02             | 0.02        | <0.02            | 0.2              | -                | -                                                               | -                          | 0.2         | -                | -                | -                               | -                     |

[0075] \*ND- 没有检测

[0076] \*\* 所有数字都以 (w/w) %表示

[0077] \*\*\*I-III 从 Cheminova 得到的药用级马拉硫磷的商业样品。分析之前样品在合适的贮存条件下至少贮存一年。

[0078] 当与 USP 马拉硫磷比较时,由本发明的方法制备的马拉硫磷具有更少的异马拉硫磷, < 0.02% (w/w), 与之相比的 USP 马拉硫磷是 0.27% (w/w)。此外,通过本发明的方法制备的马拉硫磷具有少量的 (i) MeOSSPO 存在, < 0.02% (w/w), 与之相比的 USP 马拉硫磷是 0.04% (w/w), (ii) 由本发明的方法制备的马拉硫磷的富马酸二乙酯, < 0.01% (w/w), 与之相比的 USP 马拉硫磷是 0.05% (w/w), (iii) 由本发明的方法制备的马拉硫磷中的甲基马拉硫磷, 0.06-0.07% (w/w), 与之相比的 USP 马拉硫磷是 0.17% (w/w), (iv) 由本发明的方法制备的马拉硫磷中的马拉硫磷羧酸, < 0.03% (w/w), 与之相比的 USP 马拉硫磷是 0.77% (w/w), 以及由本发明的方法制备的马拉硫磷中的巯基丁二酸酯, 0.01% (w/w), 与之相比的 USP 马拉硫磷是 0.04% (w/w)。

[0079] 当与从 Cheminova 得到的马拉硫磷相比时,由本发明方法制备的马拉硫磷具有更少量的异马拉硫磷, < 0.02% (w/w), 与之相比的从 Cheminova 得到马拉硫磷 0.2% (w/w)。另外,由本发明的方法制备的马拉硫磷中具有更少量的 (i) MeOSSPO 存在, < 0.02% (w/w), 与之相比的 USP 马拉硫磷是 0.05% (w/w), (ii) 由本发明的方法制备的马拉硫磷中的富马酸二乙酯, < 0.01% (w/w), 与之相比的从 Cheminova 得到的马拉硫磷是 0.02% (w/w), (iii) 由本发明的方法制备的马拉硫磷中的甲基马拉硫磷, 0.06-0.07% (w/w), 与之相比的从 Cheminova 得到的马拉硫磷是 0.1-0.2% (w/w)。

[0080] 在该纯化阶段的马拉硫磷的实施例包括:

[0081] (i) 大于约 98.5% (w/w) 的马拉硫磷、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPO、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPO、小于约 0.1% (w/w) 的马拉氧磷、小于约 0.2% (w/w) MeOSSPS、小于约 0.2% (w/w) 的富马酸二乙酯、小于约 0.3% (w/w) 的甲基马拉硫磷, 和 / 或小于约 0.1% (w/w) 的异马拉硫磷;

[0082] (ii) 大于约 98.5% (w/w) 的马拉硫磷、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPO、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPO、小于约 0.1% (w/w) 的马拉氧磷、小于约 0.2% (w/w) 的 MeOSSPS、小于约 0.2% (w/w) 富马酸二乙酯、小于约 0.3% (w/w) 的甲基马拉硫磷、小于约 0.3% (w/w) 的 0,0- 甲基, 乙基 -S-(1,2- 二羧基乙氧基) 乙基二硫代磷酸酯、小于约 0.3% (w/w) 的马拉硫磷羧酸和 / 或小于约 0.1% (w/w) 的异马拉硫磷;

[0083] (iii) 大于约 99.0% (w/w) 的马拉硫磷、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPO、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPO、小于约 0.1% (w/w) 的马拉氧磷、小于约 0.2% (w/w) 的 MeOSSPS、小于约 0.2% (w/w) 的富马酸二乙酯、小于约 0.3% (w/w) 的甲基马拉硫磷, 和 / 或小于约 0.1% (w/w) 的异马拉硫磷;

[0084] (iv) 大于约 99.0% (w/w) 的马拉硫磷、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPO、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPO、小于约 0.1% (w/w) 的马拉氧磷、小于约 0.2% (w/w) MeOSSPS、小于约 0.2% (w/w) 的富马酸二乙酯、小于约 0.3% (w/w) 的甲基马拉硫磷, 小于约 0.3% (w/w) 的 0,0- 甲基, 乙基 -S-(1,2- 二羧基乙氧基) 乙基二硫代磷酸酯、小于约 0.3% 的马拉氧磷、小于约 0.3% 的马拉硫磷羧酸 (0,0- 二甲基 -S-(1- 羧基 -2- 羧基乙氧基) 乙基二硫代磷酸酯和 / 或 0,0- 二甲基 -S-(1- 羧基 2- 羧基) 乙基二硫代磷酸酯)、小于约 0.1% (w/w) 的异马拉硫磷;

[0085] (v) 大于约 99.0% (w/w) 的马拉硫磷、小于约 0.1% (w/w) 的异马拉硫磷和 / 或小于约 0.3% (w/w) 的马拉硫磷羧酸；

[0086] (vi) 大于约 99.0% (w/w) 的马拉硫磷、小于约 0.02% (w/w) 的异马拉硫磷和 / 或小于约 0.03% (w/w) 的马拉硫磷羧酸；

[0087] (vii) 大于约 99.0% (w/w) 的马拉硫磷、小于约 0.02% (w/w) 的异马拉硫磷，小于约 0.03% (w/w) 的马拉硫磷羧酸，小于约 0.1% (w/w) 的 MeOOSPO、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPO 和 / 或小于约 0.2% (w/w) 的 MeOSSPS；以及

[0088] (viii) 大于约 99.0% (w/w) 的马拉硫磷、小于约 0.02% (w/w) 的异马拉硫磷，小于约 0.03% (w/w) 的马拉硫磷羧酸，小于约 0.04% (w/w) 的 MeOOSPO、小于约 0.02% (w/w) 的 MeOSSPO 和 / 或小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPS。

[0089] 另外，在上述任何一个实施例中，在这个纯化的阶段出现在马拉硫磷中的任何其他可检测的杂质少于 0.1% (w/w)。

[0090] 实例 7：马拉硫磷的贮藏稳定性

[0091] 表 IV 示出了在各种不同条件下贮存后两种不同批次的马拉硫磷的分析数据。

[0092] 表 IV：由本发明的方法制备的马拉硫磷在不同条件下贮存 3 个月后的分析结果  
\*(a) 批次 I

[0093]

| 化合物     | 基线 <sup>**</sup> | 在 5℃<br>下贮存 | 在 25℃/60%<br>相对湿度下<br>贮存 | 在 30℃/60%<br>相对湿度下<br>贮存 | 在 40℃/75%<br>相对湿度下<br>贮存 |
|---------|------------------|-------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| MeOOSPO | <0.04            | <0.04       | <0.04                    | <0.04                    | 0.05                     |
| MeOSSPO | <0.02            | <0.02       | <0.02                    | <0.02                    | <0.02                    |
| MeOSSPS | 0.1              | 0.1         | 0.1                      | 0.1                      | 0.2                      |
| 马拉氧磷    | <0.05            | <0.02       | <0.02                    | <0.02                    | <0.05                    |
| 富马酸二乙酯  | <0.01            | <0.01       | <0.01                    | <0.01                    | <0.02                    |
| 二甲基马拉硫磷 | <0.02            | <0.02       | <0.02                    | <0.02                    | <0.02                    |
| 甲基马拉硫磷  | 0.06             | 0.06        | 0.06                     | 0.06                     | 0.06                     |
| 异马拉硫磷   | 0.06             | <0.05       | 0.04                     | 0.06                     | 0.1                      |
| 马拉硫磷的纯度 | 99.5             | 99.7        | 99.0                     | 99.0                     | 97.5                     |

[0094] \* 所有数据以 % (w/w) 示出

[0095] \*\* 基线 - 在时间 0 时的结果

[0096] 批次 II

[0097]

| 化合物     | 基线 <sup>**</sup> | 在 5℃<br>下贮存 | 在 25℃/60%<br>相对湿度下<br>贮存 | 在 30℃/60%<br>相对湿度下<br>贮存 | 在 40℃/75%<br>相对湿度下<br>贮存 |
|---------|------------------|-------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| MeOOSPO | <0.04            | <0.04       | <0.04                    | <0.04                    | 0.05                     |
| MeOSSPO | <0.02            | <0.09       | <0.02                    | <0.02                    | <0.02                    |
| MeOOSPS | 0.09             | 0.1         | 0.09                     | 0.1                      | 0.2                      |
| 马拉氧磷    | <0.05            | <0.05       | <0.05                    | <0.05                    | <0.05                    |
| 富马酸二乙酯  | <0.06            | <0.01       | <0.01                    | <0.01                    | <0.02                    |
| 二甲基马拉硫磷 | <0.02            | <0.02       | <0.02                    | <0.02                    | <0.02                    |
| 甲基马拉硫磷  | 0.08             | 0.07        | 0.07                     | 0.08                     | 0.08                     |
| 异马拉硫磷   | <0.04            | <0.05       | 0.07                     | 0.08                     | 0.2                      |
| 马拉硫磷的纯度 | 99.5             | 99.7        | 99.4                     | 99.1                     | 97.4                     |

[0098] 表 IV 示出了在这些测试条件下贮存 3 个月后对由本发明的方法制备的两种不同批次的马拉硫磷的 HPLC 分析的结果。

[0099] 本发明提供了以在各种不同条件下贮存后仍是稳定的为特征的马拉硫磷。稳定可有以下事实为特征：异马拉硫磷、MeOOSPO、MeOSSPO 以及 MeOOSPS 在贮存后不超过 0.2% (w/w)。

[0100] 在 5℃ 贮存 3 个月后，马拉硫磷具有以下纯度 / 杂质特性，大于约 98.5% (w/w) 马拉硫磷，小于约 0.1% (w/w) 的 MeOOSPO、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPO、小于约 0.1% (w/w) 的马拉氧磷、小于约 0.2% (w/w) 的 MeOOSPS、小于约 0.2% (w/w) 的富马酸二乙酯、小于约 0.2% (w/w) 的二甲基马拉硫磷、小于约 0.3% (w/w) 甲基马拉硫磷和 / 或小于约 0.1% (w/w) 的异马拉硫磷；在另一实施例中，在 5℃ 贮存 3 个月后马拉硫磷具有如下特性：大于约 99.7% (w/w) 的马拉硫磷，小于约 0.04% (w/w) 的 MeOOSPO、小于约 0.02% (w/w) 的 MeOSSPO、小于约 0.05% (w/w) 的马拉氧磷、小于约 0.1% (w/w) MeOOSPS、小于约 0.01% (w/w) 的富马酸二乙酯、小于约 0.02% (w/w) 的二甲基马拉硫磷、小于约 0.06% (w/w) 的甲基马拉硫磷和 / 或小于约 0.05% (w/w) 的异马拉硫磷。

[0101] 在 25℃ / 60% 的相对湿度下贮存 3 个月后，马拉硫磷具有以下纯度 / 杂质特性，大于约 98.5% (w/w) 的马拉硫磷，小于约 0.1% (w/w) 的 MeOOSPO、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPO、小于约 0.1% (w/w) 的马拉氧磷、小于约 0.2% (w/w) 的 MeOOSPS、小于约 0.2% (w/w) 的富马酸二乙酯、小于约 0.2% (w/w) 二甲基马拉硫磷、小于约 0.3% (w/w) 的甲基马拉硫磷和 / 或小于约 0.1% (w/w) 的异马拉硫磷；在第二个实施例中，在 25℃ / 60% 的相对湿度下贮存 3 个月后马拉硫磷的具有如下特性：大于约 99.0% (w/w) 的马拉硫磷，小于约 0.04% (w/w) 的 MeOOSPO、小于约 0.02% (w/w) 的 MeOSSPO、小于约 0.05% (w/w) 的马拉氧磷、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOOSPS、小于约 0.01% (w/w) 的富马酸二乙酯、小于约 0.02% (w/w) 的二甲基马拉硫磷、小于约 0.06% (w/w) 的甲基马拉硫磷和 / 或小于约 0.04% (w/w) 的异马拉硫磷。

[0102] 在 30℃ / 60% 的相对湿度下贮存 3 个月后，马拉硫磷具有以下纯度 / 杂质特性，大于约 98.5% (w/w) 的马拉硫磷，小于约 0.1% (w/w) 的 MeOOSPO、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPO、小于约 0.1% (w/w) 的马拉氧磷、小于约 0.2% (w/w) 的 MeOOSPS、小于约 0.2% (w/w) 的富马酸二乙酯、小于约 0.2% (w/w) 的二甲基马拉硫磷、小于约 0.3% (w/w) 的甲基

马拉硫磷和 / 或小于约 0.1% (w/w) 的异马拉硫磷 ; 在第二个实施例中, 在 30℃ /60% 的相对湿度下贮存后, 马拉硫磷具有如下特性 : 大于约 99.0% (w/w) 的马拉硫磷, 小于约 0.04% (w/w) 的 MeOOSPO、小于约 0.02% (w/w) 的 MeOSSPO、小于约 0.05% (w/w) 的马拉氧磷、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOOSPS、小于约 0.01% (w/w) 的富马酸二乙酯、小于约 0.02% (w/w) 的二甲基马拉硫磷、小于约 0.06% (w/w) 的甲基马拉硫磷和 / 或小于约 0.04% (w/w) 的异马拉硫磷。

[0103] 在 40℃ /75% 的相对湿度下贮存 3 个月后, 马拉硫磷具有以下纯度 / 杂质特性, 大于约 97.0% (w/w) 的马拉硫磷、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOOSPO、小于约 0.1% (w/w) 的 MeOSSPO、小于约 0.1% (w/w) 的马拉氧磷、小于约 0.2% (w/w) 的 MeOOSPS、小于约 0.2% (w/w) 的富马酸二乙酯、小于约 0.2% (w/w) 二甲基马拉硫磷、小于约 0.3% (w/w) 的甲基马拉硫磷和 / 或小于约 0.1% (w/w) 的异马拉硫磷 ; 在第二实施例中, 在 40℃ /75% 的相对湿度下贮存 3 个月后马拉硫磷的特性如下 : 大于约 97.5% (w/w) 的马拉硫磷, 小于约 0.05% (w/w) 的 MeOOSPO、小于约 0.02% (w/w) 的 MeOSSPO、小于约 0.05 的马拉氧磷、小于约 0.2% (w/w) 的 MeOOSPS、小于约 0.02% (w/w) 的富马酸二乙酯、小于约 0.02% (w/w) 的二甲基马拉硫磷、小于约 0.06% (w/w) 的甲基马拉硫磷和 / 或小于约 0.1% (w/w) 的异马拉硫磷。

[0104] 实例 8 :

[0105] 利用通过本发明的方法制备的马拉硫磷而制备的洗液制剂的一个实例包括以下成分 :

[0106] 表 V : 马拉硫磷洗液

[0107]

| 组分   | % (w/w) |
|------|---------|
| 异丙醇  | 70*     |
| 松油醇  | 12.672  |
| 松油精  | 10.493  |
| 马拉硫磷 | 0.654   |
| 松针油  | 0.284   |

[0108] \* 异丙醇的量可增长, 这样各种组分的所有百分比的总和等于百分之百 (100%)。

[0109] 在各种不同贮存条件下测试在马拉硫磷洗液制剂 ( 表 V ) 中由本发明的方法制备的马拉硫磷的稳定性。在每一个贮存条件下分析杂质的百分比。结果示于表 VI 中。在一个实施例中, 在 5℃ 贮存 3 个月后洗液中的马拉硫磷具有以下纯度 / 杂质特性, 小于约 0.5% (w/w) 的富马酸二乙酯、小于约 0.5% (w/w) 的甲基马拉硫磷、小于约 0.1% (w/w) 的异马拉硫磷、小于约 0.1% (w/w) 的马拉氧磷, 和 / 或小于约 0.5% (w/w) 的二甲基马拉硫磷。另外, 在这个实施例中, 存在小于 0.5% (w/w) 的任何其他可检测的杂质。在另一实施例中, 在 5℃ 贮存 3 个月后洗液中的马拉硫磷具有以下纯度 / 杂质特性, 小于约 0.02% (w/w) 的富马酸二乙酯、小于约 0.2% (w/w) 的甲基马拉硫磷、小于约 0.05% (w/w) 的异马拉硫磷、

小于约 0.03% (w/w) 的马拉氧磷,和 / 或小于约 0.03% (w/w) 的二甲基马拉硫磷。

[0110] 在 25℃ /60% 的相对湿度下贮存 3 个月后洗液中的马拉硫磷具有以下纯度 / 杂质特性,小于约 0.5% (w/w) 的富马酸二乙酯、小于约 0.5% (w/w) 的甲基马拉硫磷、小于约 0.1% (w/w) 的异马拉硫磷、小于约 0.03% (w/w) 的马拉氧磷,和 / 或小于约 0.03% (w/w) 的二甲基马拉硫磷。此外,在这个实施例中,存在小于 0.5% (w/w) 的任何其他可检测杂质。在另一实施例中,在 5℃ 贮存 3 个月后洗液中的马拉硫磷具有以下纯度 / 杂质特性,小于约 0.01% (w/w) 的富马酸二乙酯、小于约 0.1% (w/w) 的甲基马拉硫磷、小于约 0.05% (w/w) 的异马拉硫磷、小于约 0.03% (w/w) 的马拉氧磷,和 / 或小于约 0.03% (w/w) 的二甲基马拉硫磷。

[0111] 在 30℃ /60% 的相对湿度下贮存 3 个月后,洗液中的马拉硫磷具有以下纯度 / 杂质特性,小于约 0.5% (w/w) 的富马酸二乙酯、小于约 0.5% (w/w) 的甲基马拉硫磷、小于约 0.1% (w/w) 的异马拉硫磷、小于约 0.03% (w/w) 的马拉氧磷,和 / 或小于约 0.03% (w/w) 的二甲基马拉硫磷。在这个实施例中,存在小于 0.5% (w/w) 任何其他可检测的杂质。在第二个实施例中,在这些贮存条件下 (30℃ /60% 的相对湿度) 洗液中的马拉硫磷具有以下纯度 / 杂质特性,小于约 0.02% (w/w) 的富马酸二乙酯、小于约 0.02% (w/w) 的甲基马拉硫磷、小于约 0.05% (w/w) 的异马拉硫磷、小于约 0.03% (w/w) 的马拉氧磷,和 / 或小于约 0.03% (w/w) 的二甲基马拉硫磷。

[0112] 在 40℃ 和 75% 的相对湿度下贮存 3 个月后洗液中的马拉硫磷具有以下纯度 / 杂质特性,小于约 0.5% (w/w) 的富马酸二乙酯、小于约 0.5% (w/w) 的甲基马拉硫磷、小于约 0.1% (w/w) 的异马拉硫磷、小于约 0.03% (w/w) 的马拉氧磷,和 / 或小于约 0.03% (w/w) 的二甲基马拉硫磷。在这个实施例中,存在小于 0.5% (w/w) 的任何其他可检测的杂质。在这些贮存条件下,在第二个实施例中,洗液中的马拉硫磷具有以下特性,小于约 0.01% (w/w) 的富马酸二乙酯、小于约 0.04% (w/w) 的甲基马拉硫磷、小于约 0.07% (w/w) 的异马拉硫磷、小于约 0.03% (w/w) 的马拉氧磷,和 / 或小于约 0.22% (w/w) 的二甲基马拉硫磷。

[0113] 表 VI :在各种不同条件下贮存 3 个月后,洗液中马拉硫磷的稳定性。

[0114]

| 化合物         | 基线 时间<br>0 | 在 5℃ 下贮<br>存 | 在 25 ℃<br>/60% 相 对<br>湿度 下 贮<br>存 | 在 30 ℃<br>/60% 相 对<br>湿度 下 贮<br>存 | 在 40 ℃<br>/75% 相 对<br>湿度 下 贮<br>存 |
|-------------|------------|--------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 马拉氧磷        | <0.1       | <0.03        | <0.03                             | <0.03                             | <0.03                             |
| 富马酸二<br>乙酯  | <0.5       | 0.02         | 0.01                              | 0.02                              | 0.01                              |
| 二甲基马<br>拉硫磷 | <0.5       | <0.03        | <0.03                             | <0.03                             | 0.22                              |
| 甲基马拉<br>硫磷  | <0.05      | 0.2          | 0.1                               | <0.02                             | <0.04                             |
| 异马拉硫<br>磷   | <0.1       | <0.05        | <0.05                             | <0.05                             | 0.07                              |

[0115] 实例 9 :分析方法

[0116] 利用 HPLC 进行 MeOOSPO、MeOSSPO、马拉氧磷、MeOOSPS、富马酸二乙酯、二甲基马拉硫磷、甲基马拉硫磷、O, O- 甲基, 乙基 -S-(1,2- 二羰基乙氧基) 乙基二硫代磷酸酯、二硫代丁二酸四乙基酯、异马拉硫磷、马拉硫磷羧酸、巯基丁二酸酯和硫代二丁二酸四乙基酯的分析。流动相是水、乙腈和甲醇的混合物 (480 : 370 : 150) 并且在每 1000ml 的流动相中加入一滴 85% 的磷酸。对方法进行验证并且系统的重复性、线性和再现性、中间精密度、相关化合物的回收和灵敏度将根据标准方法进行评价 (U. S. Pharmacopeia, 2004, U. S. Pharmacopeial Convention, Inc., 12601 Twinbrook Parkway, Rockville, MD 20852)。如果必要, 可调整流动相成分和 / 或流动速率以满足色谱参数。对于各种杂质和对马拉硫磷的分析参数示于以下的表 VII 中。

[0117] 表 VII : 对于各种杂质和马拉硫磷的分析参数

[0118]

| 化合物                          | 保留时间 (min) | 相对保留时间 | 检测限值 (LOD, %) | 定量限值 (LOQ, %) | 相对响应因子 | 分辨率  |
|------------------------------|------------|--------|---------------|---------------|--------|------|
| MeOOSPO                      | 1.7        | 0.08   | 0.04          | 0.05          | 0.06   | ---  |
| MeOSSPO                      | 2.1        | 0.10   | 0.02          | 0.03          | 0.2    | 3.3  |
| 马拉氧磷                         | 4.2        | 0.19   | 0.05          | 0.06          | 0.1    | 13.2 |
| MeOOSPS                      | 6.5        | 0.30   | 0.02          | 0.03          | 1.1    | 10.1 |
| 富马酸二乙酯                       | 7.2        | 0.33   | 0.01          | 0.02          | 8.8    | 2.6  |
| 二甲基马拉硫磷                      | 8.9        | 0.41   | 0.02          | 0.03          | 1.2    | 5.4  |
| 甲基马拉硫磷                       | 13.8       | 0.63   | 0.03          | 0.04          | 1.1    | 10.5 |
| 马拉硫磷                         | 21.8       | 1.00   | 0.03          | 0.04          | 1.0    | 11.0 |
| 乙基 -S-(1,2- 二羰基乙氧基) 乙基二硫代磷酸酯 | 32.6       | 1.58   | 0.02          | 0.03          | 0.9    | ---  |
| 异马拉硫磷                        | 5.3        | 0.3    | 0.02          | 0.03          | 0.3    | ---  |
| 马拉硫磷                         | 19.0       | 1.00   | 0.02          | 0.03          | 1.0    | ---  |

[0119] 检测限值是分析物可被可靠地检测的最小浓度 (% w/w)。定量限值是分析物可被可靠地定量的最小浓度。检测限值和定量限值通过从具有已知低浓度分析物的样品中得到的信号与从空白样品中得到的信号进行对比而被确定。相对响应因子是由分析物的校准曲线与相对应的内部标准 (或替代品和相对应的内部标准) 提供的斜率比。分辨率是两个峰在基线上的平均峰宽度的分离度 ( $t_{R2} > t_{R1}$ )。

[0120]

$$\text{分辨率} = \frac{(t_{R2} - t_{R1})}{(w_{b1} + w_{b2})/2} = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{(w_{b1} + w_{b2})}$$

[0121] 在两个相邻峰的情况下,可以假定  $w_{b1} = w_{b2}$ ,因此,第二个峰的宽度可被平均值替代:分辨率 =  $(t_{R2} - t_{R1}) / w_{b2}$ 。

[0122] (a) 马拉硫磷分析的计算

[0123]

$$\% \text{ 分析 ( 本来是 ) } (w/w) = \frac{W_{st} \times S_{sm} \times A_{st}}{S_{st} \times W_{sm}}$$

[0124]  $W_{st}$  = 以 mg 表示的马拉硫磷标准物的重量

[0125]  $W_{sm}$  = 以 mg 表示的马拉硫磷样品的重量

[0126]  $S_{sm}$  = 从马拉硫磷样品溶液中获得马拉硫磷的峰面积

[0127]  $S_{st}$  = 从马拉硫磷标准物溶液得到的马拉硫磷的平均峰面积

[0128]  $A_{st}$  = 以百分比表示的马拉硫磷标准物的检测

[0129] (b) 杂质含量的计算

[0130] % 已知的或未知的杂质 (未知杂质是一种可检测的,但没有化学表征的)

[0131]  $(w/w) = (W_{st} \times S_{sm} \times A_{st}) / (S_{st} \times W_{sm} \times RRF \times 200)$

[0132]  $W_{st}$  = 以 mg 表示的马拉硫磷标准物的重量

[0133]  $W_{sm}$  = 以 mg 表示的马拉硫磷样品的重量

[0134]  $S_{sm}$  = 从马拉硫磷样品溶液中获得马拉硫磷的峰面积

[0135]  $S_{st}$  = 从马拉硫磷标准物溶液得到的马拉硫磷的平均峰面积

[0136]  $A_{st}$  = 以百分比表示的马拉硫磷标准物的检测

[0137] RRF = 相对响应因子 (对于未知杂质是 1.0)

[0138] 注意:对于未知杂质,可使用马拉硫磷的检测限值和定量限值,并且相对响应因子  $RRF = 1$

[0139] (c) 马拉硫磷纯度的计算

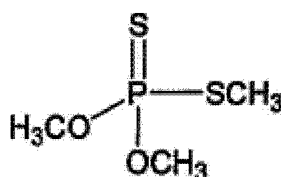
[0140] % 马拉硫磷纯度  $(w/w) = 100 - [\% (w/w) \text{ 已知杂质} + \% (w/w) \text{ 未知杂质}]$

[0141] (d) 利用具有 FID 检测器的气相色谱 (GC) 仪分析样品中杂质的存在。使用的色谱条件是:(i) 柱 -HP-5, 5% 苯基甲基硅氧烷或等同物;(ii) 样品进入的入口 - 裂口;(iii) 入口温度 -230°C;(iv) 分流比 -10 : 1;(v) 载气 -He, 保持 3.5ml/min 的恒定流速;(vi) 注射体积 -1  $\mu$ l;(vii) 检测 -FID;(viii) 检测器温度 -250°C;(ix) 恒定流速 + 补偿流速 -30.0ml/min;(x) 炉 - 初始温度, 100°C;(xi) 初始时间 -8 分钟;(xii) 速率 -25°C;(xiii) 最终温度 -220°C;(xiv) 最终时间 = 7 分钟;(xv) 测试时间 -19.8 分钟, (xv) 稀释剂 - 乙腈。

[0142] 实例 10 :用于分析测试的杂质的制备

[0143] (a) 0, 0, S- 三甲基二硫代磷酸酯 (MeOOSPS)

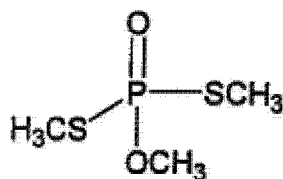
[0144]



[0145] 二甲基二硫代磷酸的甲苯溶液在碳酸钠存在的情况下在环境温度下与碘甲烷反应并且通过过滤除去甲苯。残留的液体在 130°C 下蒸馏得到了无色液体。

[0146] (b) O, S, S- 三甲基二硫代磷酸酯 (MeOSSPO)

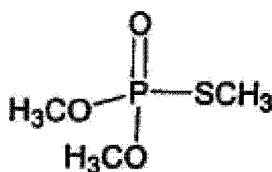
[0147]



[0148] 二甲基二硫代磷酸在甲苯 / 乙腈混合物的溶液中在 KOH 存在的情况下回流 20 个小时。在冰 / 水浴下 S, S- 二甲基二硫代磷酸酯的钾盐被沉淀。通过过滤而收集该盐。在过滤后, 该盐在乙腈中悬浮并且在回流温度下用二甲基硫酸盐处理 6 个小时。加入水并且该混合物回流 1 小时以破坏过多的甲基化试剂。反应混合物被过滤并且溶剂被蒸发。残留的残留物萃取到氯仿中并且氯仿层用水洗。该氯仿层用硫酸钠干燥并且残留物真空蒸馏, 得到了 MeOSSPO。

[0149] (c) 三甲基硫代磷酸酯 (MeOOSP0)

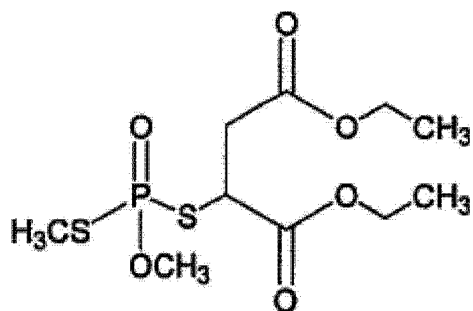
[0150]



[0151] 预冷却的二甲基二硫代磷酸的甲苯溶液在保持反应温度在 5-10℃ 下用 Cl<sub>2</sub> 处理。然后该混合物被加热到回流温度 1.5 小时。冷却到室温后, KOH 的水溶液逐滴加入到反应混合物中直到达到碱性 (pH > 7.0)。有机层和水层被分离并且蒸发水层直至干燥。将乙腈加入到固体残留物中, 过滤该混合物并且蒸发乙腈。残留的残留物在乙腈中重悬, 然后在环境温度下用碘甲烷处理 10 小时。溶剂被蒸发并且用乙酸乙酯萃取该残留物。在萃取后, 乙酸乙酯被蒸发至干燥。残留的液体被减压蒸馏, 得到 MeOOSP0。

[0152] (d) 异马拉硫磷

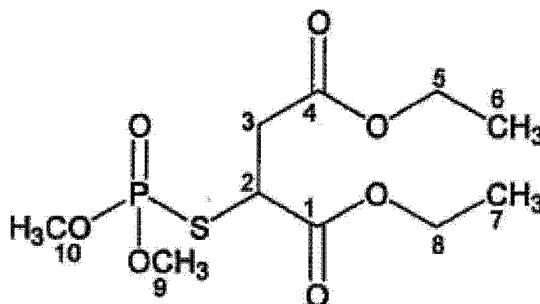
[0153]



[0154] 这个产品是美国药典上的参考标准 (B. No. F1B107) ([www.usp.org](http://www.usp.org)), 是可商购到的。

[0155] (e) 马拉氧磷

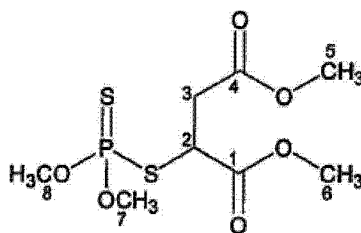
[0156]



[0157] 这个产品是可商业利用的欧洲药典化学参考物质 (Ph. Eur. CRS) 马拉硫磷 CRS (Malathion Impurity B), B. No. 2. ([www.pheur.org](http://www.pheur.org))。

[0158] (f) 二甲基马拉硫磷

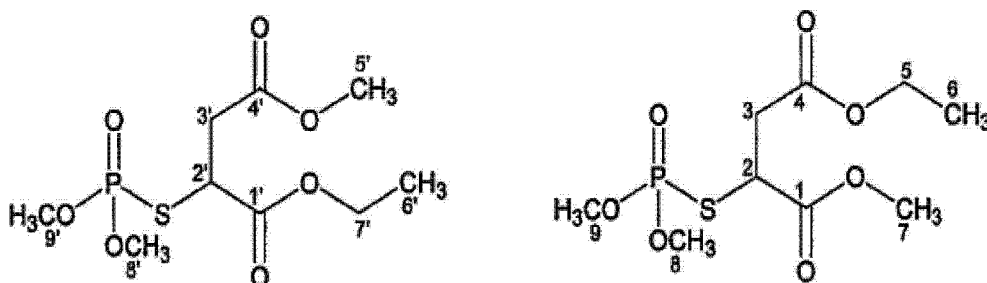
[0159]



[0160] 马拉硫磷、甲醇及催化剂量的浓硫酸的混合物回流 7 小时。冷却到环境温度后,该溶液用碳酸氢钠水溶液处理。该溶液被蒸发并萃取到氯仿中。然后氯仿层被过滤。该氯仿层含有马拉硫磷、单甲基马拉硫磷和二甲基马拉硫磷的混合物。二甲基马拉硫磷由制备型 HPLC 分离。

[0161] (g) 甲基马拉硫磷

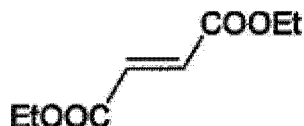
[0162]



[0163] 单甲基马拉硫磷由制备型 HPLC 从 (f) 中描述的反应混合物中分离出来。

[0164] (h) 富马酸二乙酯

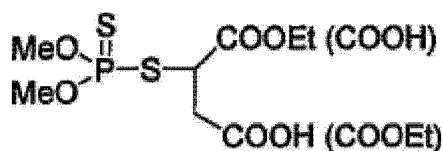
[0165]



[0166] 富马酸二乙酯 B. No. DEF M-354, 可从 SigmaAldrich ([www.sigmaaldrich.com](http://www.sigmaaldrich.com)) 购得。

[0167] (i) 0, 0-二甲基-S-(1-羧基-2-巯基乙氧基)乙基二硫代磷酸酯及相应的乙基类似物 (马拉硫磷羧酸)

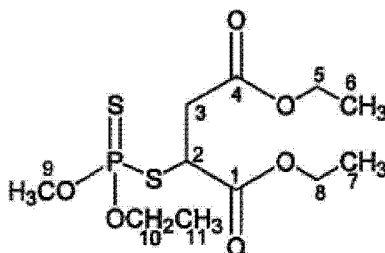
[0168]



[0169] 如 N. Lee Wolfe 等人所描述的制备马拉硫磷单酸 (*J. Agric. Food Chem.* 23(6) : 121-1215 (1976))。

[0170] (j) 0, 0- 甲基乙基 -S-(1, 2- 二羧基乙氧基) 乙基二硫代磷酸酯

[0171]



[0172] 由两个化学步骤以及一个纯化步骤制备该化学物质。

[0173] (i) 步骤 I : 二硫代磷酸 (dithiolo acid, 它是  $P_2S_5$  与甲醇和乙醇的混合物反应生成的混合酸, 该反应产物混合物中包含以下成分 : 0, 0- 二甲基二硫代磷酸 ; 0, 0- 二乙基二硫代磷酸 ; 0, 0- 甲基, 乙基二硫代磷酸 (或者 0- 乙基 -0- 甲基二硫代磷酸)

[0174] 20 克的  $P_2S_5$  悬浮在甲苯中, 甲醇 : 乙醇的 1 : 1 (v/v) 的混合物逐滴加入同时保持温度在 70°C 以下。加入甲醇 : 乙醇后, 空气鼓泡通过反应物以除去任何溶解的  $H_2S$ 。然后混合物冷却到环境温度并且通过过滤除去任何未反应的  $P_2S_5$ 。用水萃取甲苯溶液。

[0175] (ii) 步骤 II : 粗制的马拉硫磷衍生物的制备

[0176] 含有二硫代磷酸 (dithiolo acid) 的水层在 55°C 下用马来酸二乙酯及氢醌处理。5 小时后, 反应物质冷却到环境温度并且分离各层。下面的有机层用水清洗两次并且反应混合物用气相色谱和 HPLC 分析。有三种主要的产物 : (i) 马拉硫磷 (19.3%) ; (ii) 0, 0- 甲基乙基 -S-(1, 2- 二羧基乙氧基) 乙基二硫代磷酸酯 (38.82%) ; 以及 (iii) 0, 0- 二乙基 -S-(1, 2- 二羧基乙氧基) 乙基二硫代磷酸酯 (8.87%) (数据以 % 面积示出)。

[0177] (iii) 步骤 III 0, 0- 甲基乙基 -S-(1, 2- 二羧基乙氧基) 乙基二硫代磷酸酯的纯化。

[0178] 该产物由制备型 HPLC 分离。

[0179] (k) 2- 巯基丁二酸二乙基酯 - 在 100ml 的纯乙醇中, 相应的巯基二酸 (10 克) 在 1 克 98% 硫酸存在的情况下回流 3 小时而被酯化。然后反应混合物被冷却到环境温度并且大部分乙醇在减压下除去。向剩余物中加入水和乙酸乙酯。各层被分离并且有机溶剂被除去, 得到了气相色谱纯度为 96% (w/w) 的无色产物。

[0180] (l) 二硫代丁二酸四乙基酯 - 在环境温度下 2- 巯基丁二酸二乙基酯在催化剂量的  $HCl$  (32%) 存在的情况下用 30% (v/v) 的过氧化氢处理 16 小时。反应混合物用乙酸乙酯萃取并且有机层用 2% 的氢氧化钠水溶液清洗, 以除去任何未反应的起始原料。溶剂的除去得到了纯度为 95% (GC) 的无色产物。

[0181] (m) 硫代丁二酸四乙基酯 - 2- 巯基丁二酸二乙基酯的钠盐在两相体系 (甲苯 / 水) 中在环境温度下与马来酸二乙酯反应, 得到想要的产物。

[0182] 各种参考材料,包括专利和各种出版物,在本发明的说明书中引用并且讨论的。提供这些参考材料的引用和讨论仅仅是为了使本发明的说明书更清晰并且不承认任何参考材料是这里描述的本发明的现有技术。在该说明书中所有引用的和讨论的参考材料的全部内容以引用的方式结合于此。在说明书中示出和讨论的实施例仅仅是为了传授给那些本领域的技术人员本发明人所知道的制造并利用本发明的最好的方式。在这个说明书中的任何东西都不应该认为限制本发明的范围。如本领域的那些技术人员依据上述传授的内容而理解的,在不背离本发明的上述实例的更改和变化都是可能的。因此应该理解为在权利要求和它们的等同替代的范围内,本发明可以不同于具体描述的方式操作。