

[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 200680021384.9

[51] Int. Cl.

A61K 9/19 (2006.01)

A61K 31/65 (2006.01)

C07C 237/26 (2006.01)

[43] 公开日 2008 年 6 月 11 日

[11] 公开号 CN 101198315A

[22] 申请日 2006. 6. 16

[21] 申请号 200680021384.9

[30] 优先权

[32] 2005. 6. 16 [33] US [31] 60/691,173

[86] 国际申请 PCT/US2006/023613 2006. 6. 16

[87] 国际公布 WO2006/138641 英 2006. 12. 28

[85] 进入国家阶段日期 2007. 12. 14

[71] 申请人 惠氏公司

地址 美国新泽西州

[72] 发明人 古尔穆克·查纳纳

多米尼克·文图拉 理查德·桑德斯

迈赫迪·B·福齐

[74] 专利代理机构 北京律盟知识产权代理有限责任
公司

代理人 刘国伟

权利要求书 1 页 说明书 14 页 附图 2 页

[54] 发明名称

替加环素的制造方法

[57] 摘要

本文中揭示一种用于制备适于静脉内输注的替加环素 (tigecycline) 的制造方法。

1. 一种制备具有少于 0.9% 的总降解物呈可重构粉末的替加环素 (tigecycline) 的制造方法, 其包括以下步骤:
 - a. 将 WFI 水中的氧含量降低且保持在小于或等于 0.5 ppm, 同时将温度保持在约 2°C 至约 8°C;
 - b. 在保持所述温度和氧含量的同时, 在步骤 a 的所述水中形成浓度为约 10 mg/ml 至 50 mg/ml 的替加环素溶液;
 - c. 用步骤 b 的所述溶液填充小瓶;
 - d. 将步骤 c 的所述溶液冻干以在小瓶中形成 25 mg 至 150 mg 的可重构粉末;
 - e. 在氮气下密封所述小瓶。
2. 根据权利要求 1 所述的制造方法, 其中在所述方法的步骤 b 中的所述替加环素溶液具有约 20 mg/ml 的浓度。
3. 根据权利要求 1 或 2 所述的制造方法, 其中在所述方法的步骤 d 中, 在所述小瓶中有 50 mg 至 150 mg 可重构粉末。
4. 根据权利要求 1 至 3 中任一权利要求所述的方法, 其中在步骤 b 中, 替加环素于水中的溶液等于或大于 80 L。
5. 根据权利要求 1 至 4 中任一权利要求所述的方法, 其中通过用氮气喷射使步骤 a 中水中的氧含量为 0.5 ppm 或更小。
6. 根据权利要求 1 至 4 中任一权利要求所述的方法, 其中通过用氮气喷射使步骤 a 中水中的氧含量为约 0.4 ppm 或更小。
7. 根据权利要求 1 至 4 中任一权利要求所述的方法, 其中通过用氮气喷射使步骤 a 中水中的氧含量为约 0.1 ppm 或更小。
8. 根据权利要求 1 至 7 中任一权利要求所述的方法, 其中在静脉内投与之前可用于重构的替加环素粉末具有至少 18 个月的保存期。
9. 一种根据权利要求 1 的方法制造的冻干替加环素粉末, 其中所述替加环素粉末具有实质上如图 1 所示的反相 HPLC 洗提曲线。
10. 一种产品, 其由权利要求 1 至 8 中任一权利要求所述的方法所制造。

替加环素的制造方法

技术领域

本发明涉及一种用于制备替加环素的制造方法。

背景技术

替加环素为具有广谱抗菌活性的抗生素。重要的是，替加环素可有效抵抗若干种抗性细菌株。通过在静脉内输注之前添加相容性重构稀释剂来重构呈粉末形式的替加环素。抗生素替加环素为经叔丁基甘氨酸基取代的并四苯甲酰胺(naphthacenecarboxamide)游离碱。

然而，替加环素难于制造，因为其易于降解（包含由大气氧进行氧化性降解）且形成差向异构体。

因此存在对于在大量制造中控制替加环素的差向异构化和氧化的制造方法的需求。

发明内容

本发明涉及一种通过在冻干粉末形式的大量制造期间控制差向异构体形成和氧化降解的替加环素制造方法。特定来说，在过程步骤期间控制温度和氧含量为本发明的重要特征。通过喷射包括非反应性气体（诸如氮气）的惰性气体介质且控制温度而在过程中保护替加环素。

本发明的一个实施例在于提供通过控制溶解氧的含量以及对本体水溶液的温度控制来制造总降解物小于 0.9%的替加环素。

本发明的另一个实施例在于提供一种具有少于 0.9%的总降解物的呈可重构粉末形式的替加环素的制造方法，且进一步提供在至少 80 L 规模上自注射用水（WFI）和替加环素的溶液获得的替加环素可重构粉末。

本发明的一个实施例在于提供一种在 WFI 水中浓度为约 10 mg/ml 至 50 mg/ml、优选 20 mg/mL 的替加环素的制造方法，其中通过用气态氮喷射所述水，水中的氧含量小于 0.5 ppm，且其中所述溶液可添加到小瓶中且所述小瓶中的溶液经冻干为可重构粉末。

本发明的另一个实施例在于提供一种用于制备替加环素粉末的具有约 13 小时至约 24 小时的本体溶液总制造保持时间的制造方法。

本发明的另一个实施例在于提供在静脉内投与之前可用于重构且具有至少 18 个月的保存期的替加环素粉末。

本发明的另一个实施例在于提供一种其中 WFI 水处于约 2℃ 至约 8℃ 的温度的制造方法。

本发明的另一个实施例在于提供从填充第一小瓶到开始 6 小时的冻干周期的最大无菌保持时间。

本发明的一个实施例在于提供用于制备具有少于 0.9% 的总降解物的呈可重构粉末形式的替加环素的制造方法，其包括以下步骤：

- a. 将 WFI 水中的氧含量降低且保持在小于或等于 0.5 ppm，同时将温度保持在约 2℃ 至约 8℃；
- b. 在保持所述温度和氧含量的同时在步骤 a 的所述水中形成浓度为约 10 mg/ml 至 50 mg/ml 的替加环素溶液；
- c. 用步骤 b 的所述溶液填充小瓶；
- d. 将步骤 c 的所述溶液冻干以在小瓶中形成 25 mg 至 150 mg 的可重构粉末；以及
- e. 在氮气下密封所述小瓶。

在上述方法的步骤 b 中的替加环素溶液优选具有约 20 mg/ml 的浓度。

在上述方法的步骤 d 的小瓶中优选有 50 mg 至 150 mg、更优选 50 mg 可重构粉末。

已分析冻干且重构的替加环素粉末具有实质上如图 1 所示的反相 HPLC 洗提曲线。

附图说明

图 1 展示来自制造方法的替加环素的反相 HPLC 洗提曲线的典型色谱图。

图 2 展示替加环素制造方法的步骤。

具体实施方式

本发明提供一种具有少于 0.9% 的总降解物的呈可重构粉末形式的替加环素的制造方法。可在 80 L 规模或大于 80 L 规模上自注射用水（WFI）和替加环素的溶液提供用于制备替加环素可重构粉末的方法。

总降解物意谓由替加环素降解所产生的化合物或产物，其包含由于替加环素的氧化而形成的那些化合物或产物（例如在 C-11 位处形成羟基或在 C-6 位处接着脱水以形成 6-烯产物）、或由于次级反应（例如脱羧、水解、光反应或闭环）而形成的那些化合物或产物（例如由于光诱导的反应通过在 C-4 位处水解和脱氨基而形成的那些产物）。在定义中包含差向异构体。定义中不包含二甲胺四环素（minocycline）和 9-氨基二甲胺四环素。

“少于 0.9% 的总降解物”意谓在形成替加环素溶液 24 小时后、但在冻干之前总降解物与替加环素的比率小于 0.9%。

通常所述方法提供浓度为约 10 mg/ml 至 50 mg/ml、优选 20 mg/mL 的替加环素于 WFI 水中的溶液，其中通过用气态氮喷射所述水使水中的氧含量小于 0.5 ppm，且其中所述溶液可添加到小瓶中且将所述小瓶中的溶液冻干为可重构粉末。

本发明提供一种用于制备替加环素粉末具有约 13 小时至约 24 小时的本体溶液总制造保持时间的制造方法，所述替加环素粉末可用于重构且进一步具有至少 18 个月的保存期。

本发明提供一种其中 WFI 水保持在约 2°C 至约 8°C 的温度且水经氮气进一步喷射以便氧含量低于 5 ppm 的制造方法。

已开发从用本体溶液填充第一小瓶到开始 6 小时的冻干周期的最大无菌保持时间以确保控制降解。

本发明提供一种用于制备具有少于 0.9% 的总降解物的呈可重构粉末形式的替加环素的制造方法，其是通过以下步骤进行：首先将 WFI 水中的氧含量降低且保持在小于 0.5 ppm，同时将温度保持在约 2°C 至约 8°C，随后在仍保持所述温度和氧含量的同时添加替加环素且形成浓度为约 10 mg/ml 至 50 mg/ml 的溶液。替加环素于水中的溶液可添加到小瓶中且进一步经冻干为可重构粉末且在氮气下将小瓶进一步密封。

优选替加环素溶液为 20 mg/ml 且在冻干后小瓶具有约 50 mg 的可重构粉末。

实例

以下实例表示本发明的方法且仅出于说明目的呈现。尽管已详细地且关于特定实施例描述本发明，但所属领域的技术人员将了解在不悖离本发明的精神和范围的情况下可对这些实施例作出各种改变和更改。

下文描述对于 80 L 的典型批量大小来说用于注射的替加环素的典型制造方法。

非无菌本体调配阶段

1. 在开始本体调配阶段之前，用经过滤氮气净化调配和填充管线、产物转移管线和调配物、中间物和保持贮槽。

2. 向调配贮槽中添加所需量的约 95% (76 L) 的注射用水且将水冷却至 2°C-8°C，同时用经过滤氮气喷射，直到溶解氧含量 ≤ 0.5 mg/L (ppm)。

3. 测量水的溶解氧含量。如果溶解氧含量大于 0.5 mg/L，那么继续用经过滤氮气喷射水直到溶解氧含量 ≤ 0.5 mg/L (ppm)，且温度为 2°C-8°C。

4. 用经过滤氮气继续喷射且向保持贮槽加压。在添加药物物质之前停止对调配贮槽中水的喷射且继续施以经过滤氮气层。

5. 向贮槽中添加 1600 g 药物物质，通过在整个过程期间保持经过滤氮气流来确保

药物物质不暴露于空气中。

6. 将本体溶液混合。溶液温度应为 2°C-8°C。
7. 向调配贮槽中添加注射用水直到达到最终体积/重量（80 L）且将溶液混合。
8. 在调配贮槽中保持经过滤氮气层。测量溶解氧含量。
9. 如果溶液的溶解氧含量大于 0.5 mg/L, 那么继续经过滤氮气喷射直到获得稳定的溶解氧含量测量值。

无菌过滤和填充

1. 填充入经灭菌玻璃小瓶中且周期性检查填充重量。部分塞住小瓶。此过程应在 6 小时内完成（最大允许无菌溶液保持时间）。
2. 用来自填充机的部分塞住的小瓶装载托盘。将装满的托盘置于关闭的运输车中。
3. 直到此步骤为止的制造过程应在 13-24 小时（最大允许本体溶液保持时间）内完成。

冻干

1. 将样品架入口温度设定为 2°C ($\pm 5^\circ\text{C}$)。
2. 装载小瓶。
3. 关上冷冻干燥器的门以开始周期。
4. 将样品架入口温度降到 -45°C。在 -45°C ($\pm 5^\circ\text{C}$) 的样品架入口温度下保持长达 4 小时或直到达到 -17°C 或低于 -17°C 的产品温度。
5. 将腔室压力降到 150 mTorr (mT) ± 150 mT, 随后开始初步干燥阶段。
6. 开始初步干燥, 且持续长达 20 小时（样品架温度: -10°C 到 +25°C）或直到产品温度升高到高于 0°C, 通过增加样品架温度来限制产品温度低于产品的塌陷温度 (-6.5°C) / 共晶温度 (-0.74°C)。
7. 通过将样品架入口温度增加到 40°C ($\pm 5^\circ\text{C}$) 来进行最后干燥且保持长达 9 小时或直到产品温度在大于 30°C 下保持至少 3 小时。
8. 用经过滤氮气改变为 12.5 psi (± 0.5 psi) 的部分真空且完全塞住小瓶。
9. 将部分真空改变为大气压。
10. 从干燥器移出小瓶且钳口密封 (crimp-seal)。

HPLC 测试

将样品小瓶的内含物溶解于稀释剂中。必要时将样品溶液稀释且使用梯度洗提用反相柱进行色谱分析。通过比较样品制剂色谱图中的杂质峰面积与伴随获得的标准制剂色谱图中替加环素峰的平均面积来测定杂质。

色谱柱—长度约 15 cm，内径约 4.6 mm，由 5 μm 大小的 Inertsil ODS2 粒子或等效物装填。

检测器—能够在 248 nm 下运作的紫外分光光度检测器，其具有约 0.5 个满量程的吸光度单位的灵敏度。

试剂和材料

乙腈—HPLC 级。

水—适于进行 HPLC。

磷酸—试剂级，约 87% H_3PO_4 。

氢氧化钾溶液（1 N）—试剂级。

三氟乙酸—试剂级。

磷酸氢二钾— K_2HPO_4 ，HPLC 级。

乙二胺四乙酸钠-(亚乙基二次氨基)-四乙酸二钠盐—HPLC 级。

亚硫酸氢钠— NaHSO_3 ，试剂级。

流动相 A—溶解的 4.35 g 磷酸氢二钾和 0.93 g 钠。

于 950 mL 水中的 EDTA。用磷酸将 pH 值调节到 6.4。添加 50 mL 乙腈且充分混合。必要时经由 0.45 μm 孔径的膜过滤器过滤。必要时脱气。

流动相 B—溶解的 4.35 g 磷酸氢二钾和 0.93 g 钠。

于 500 mL 水中的 EDTA。用磷酸将 pH 值调节到 6.4。添加 500 mL 乙腈且充分混合。必要时经由 0.45 μm 孔径的膜过滤器过滤。必要时脱气。

稀释剂—将 4.35 g 磷酸氢二钾和 0.50 g 亚硫酸氢钠称入 1 升容量瓶中。用水溶解且稀释到指定体积。用 1 N 氢氧化钾将此溶液的 pH 值调节到 8.0。

EDTA 溶液—将 3.7 g 乙二胺四乙酸钠称入 1 升容量瓶中。用 950 mL 水溶解。添加 50 mL 乙腈且充分混合。

替加环素参考标准物—具有已知浓度（S）。

使用以下材料、方法和程序研究工艺参数（诸如温度、时间和溶解氧含量）对替加环素溶液的纯度性质的影响的其它研究的结果呈现于表 A 至表 O 中。

材料和方法

替加环素药物物质批号 871858C

0.1 N NaOH 批号 9712031

0.1 N HCl 批号 2853

无菌注射用水批号 J3N472（B. Braun）

程序

在正常实验室光条件下在塑料手套袋中进行实验。塑料手套箱将用于控制烧杯的顶部空间。批量大小为 200 mL。

1. 用氮气与空气的混合物来制备手套袋以按照设计达到溶液中的氧含量。
2. 将夹套烧杯置于磁力搅拌器上。将其与冷却器连接。将冷却器设定为所需设定点。
3. 向烧杯中添加 200 mL SWFI。使其平衡。测量温度和氧含量。当其达到所需条件时，添加精确称量的 API 且混合直到溶解。必要时使用刮刀辅助溶解。对于 pH 调节来说，使用 4 mL 0.1 N NaOH 或 0.1 N HCl 和 196 mL WFI 进行制造。
4. 在完全溶解后，将约 5.5 mL 溶液转移到小瓶中且塞住小瓶。这些小瓶应在适当顶部空间条件下塞住。将小瓶置于适当温度条件下。
5. 在 1 小时、4 小时、8 小时、10 小时、12 小时和 24 小时对小瓶取样。将样品送去分析。将 10、12 和 24 样品在 -20℃ 冷冻以供第二天进行分析。
6. 在每一时间点下测量 pH 值且记录溶液颜色。

结果

实验条件

直接从烧杯取出 1 小时样品。将随后时间点的样品收集于在袋气氛中处理以模拟顶部空间条件的塞住小瓶中，随后置于水浴或冰箱中以保持其中各自的温度条件。进行此操作以保持实验室中的安全性。一次性塑料手套袋需要氮气与空气的混合物的恒定流动以保持顶部空间氧含量，其将在样品中产生所需溶解氧（DO）含量。在每一时间点下测量样品的 pH 值。

浓度和降解性质

如上所述由 HPLC 来分析浓度和降解性质。结果展示当自所述工艺中移除氧且控制温度时，可见极少降解。在较高温度条件下，降解略微升高。

这些其它研究的结果展示当自所述工艺中移除氧时，可见极少降解（参看试验 H、I 和 K-O）。在较高温度条件下，降解略微升高。所研究的 pH 值范围（7.7-8.2）对替加环素本体溶液的降解不具有任何显著影响，然而，对于在 pH 8.2、8℃ 的温度和 2 ppm 溶解氧的样品来说，与在 pH 7.7 和类似温度和溶解氧含量的溶液相比时，可见降解略微升高。24 小时后的降解总量展示溶液中温度与溶解氧含量之间的相互作用。不考虑本体溶液经制备或保持的温度，当氧含量介于 0 与约 0.4 ppm 之间时，发现降解组分的总量降到最低。对于从 0.4 ppm 到 1.2 ppm 的氧含量，降解产物的总量仍可降到最低，只要当氧含量增加时本体溶液经制备且保持的温度降低 4℃ 到 2℃ 即可。如比较性试验 A-G

和 J 中所示，可见无法避免的降解物含量。

试验#A: 替加环素20 mg/mL, (温度2℃, pH 8.2, 氧=2.0 mg/L)

小时	浓度 (mg/mL)	RRT													总计
		MW=633 0.12	MW=572 0.23	MW=601 0.50	MW=583 0.55	9-氨基 0.58	差向 异构体 0.74	MW=557 0.76	Mino 1.64	MW=556 1.67	MW=597 1.85	1.12	1.45	1.58	
1	19.639	BRL	BRL	BRL	BRL	0.07	0.18	BRL	0.10	BRL	0.06	BRL	0.06	BRL	0.47
4	19.610	BRL	BRL	BRL	0.10	0.06	0.20	0.06	0.10	0.09	0.08	BRL	0.08	BRL	0.76
8	19.473	BRL	0.07	BRL	0.17	0.06	0.19	BRL	0.10	0.14	0.07	BRL	0.07	BRL	0.86
10	19.806	BRL	0.18	0.07	0.21	0.07	0.25	BRL	0.10	0.18	0.08	BRL	0.08	BRL	1.26
12	19.901	0.05	0.19	0.08	0.19	0.06	0.26	0.06	0.10	0.19	0.08	BRL	0.08	BRL	1.40
24	19.504	BRL	0.34	0.15	0.28	0.07	0.23	0.06	0.11	0.29	0.14	BRL	0.09	BRL	1.86

RRT为相对滞留 (在柱色谱中)：组分的净滞留体积 (时间) 相对于在相同条件下的标准的比率。
BRL意谓低于报导限度 (意谓小于替加环素峰的0.05%)。

试验#B: 替加环素20 mg/mL, (温度8℃, pH 8.2, 氧=2.0 mg/L)

时间 (小时)	浓度 (mg/ml)	RRT															所有 其它	总计	
			MW=633 0.10	MW=570 0.14	MW=572 0.23	MW=601 0.36	MW=583 0.55	9-氨基 0.58	差向 异构体 0.74	MW=557 0.76	Mino 1.25	MW=556 1.67	MW=597 1.85	2.25	1.45				
1	19.149	BRL	BRL	BRL	BRL	BRL	0.11	0.07	BRL	0.20	BRL	0.10	0.14	0.08	BRL	0.07	BRL	0.75	
4	19.046	BRL	BRL	BRL	0.15	BRL	0.08	0.20	0.06	BRL	0.19	BRL	0.05	0.25	0.07	BRL	0.07	1.12	
8	18.795	BRL	BRL	BRL	0.07	BRL	0.17	0.27	0.06	BRL	0.23	0.06	0.07	0.35	0.07	BRL	0.07	1.85	
10	19.144	0.10	0.14	BRL	0.55	0.06	0.25	0.32	BRL	0.22	BRL	0.11	0.29	0.09	BRL	BRL	BRL	2.38	
12	18.668	0.12	0.14	BRL	0.62	0.06	0.27	0.29	BRL	0.24	BRL	0.09	0.23	0.08	BRL	0.07	BRL	2.61	
24	17.784	0.23	0.19	0.40	0.14	0.62	0.42	BRL	0.06	0.23	0.05	0.16	0.25	0.11	0.50	0.12	0.06	0.19	5.36

试验#C: 替加环素20 mg/mL (温度2℃, pH 7.7, 氧=2 mg/L)

时间	浓度 (mg/mL)	RRT										总计
		MW=633	MW=572	MW=601	MW=583	9-氨基	差向 异构体	MW=557	Mino	MW=556	MW=597	
		0.12	0.23	0.50	0.55	0.58	0.74	0.76	1.64	1.67	1.85	1.12 1.45 1.58
1	19.339	BRL	BRL	BRL	BRL	0.08	0.20	0.08	0.10	BRL	0.06	BRL 0.07 BRL 0.59
4	19.246	BRL	BRL	BRL	0.08	0.06	0.19	BRL	0.09	0.05	0.06	BRL 0.07 BRL 0.60
8	19.031	BRL	0.05	BRL	0.14	0.06	0.19	BRL	0.11	0.14	0.07	BRL 0.13 BRL 0.87
10	19.415	BRL	0.15	0.06	0.23	0.06	0.27	BRL	0.10	0.17	0.08	BRL 0.07 BRL 1.20
12	19.048	BRL	0.17	0.07	0.21	0.07	0.30	0.05	0.10	0.20	0.08	BRL 0.07 BRL 1.38
24	19.226	BRL	0.30	0.14	0.28	0.05	0.21	BRL	0.09	0.27	0.07	BRL 0.06 0.07 1.52

试验#D: 替加环素20 mg/mL, (温度8℃, pH 7.7, 氧=2.0 mg/L)

时间 (小时)	浓度 (mg/ml)	RRT															所有 其它	总 计				
		MW=633	MW=572	MW=601	MW=583	9-氨基	差向 异构体	MW=557	MW=528	Mino	MW=556	MW=597	2.25	1.45	1.58							
		0.09	0.10	0.12	0.23	0.36	0.50	0.55	0.58	0.64	0.74	0.76	0.78	1.25	1.64	1.67	1.85					
1	19.168	BRL	BRL	BRL	BRL	BRL	BRL	0.08	0.06	BRL	0.19	BRL	BRL	BRL	0.08	0.10	0.08	BRL	0.07	BRL	0.65	
4	18.918	BRL	BRL	BRL	0.10	BRL	0.06	0.16	0.05	BRL	0.18	BRL	BRL	0.05	(<0.05)	0.21	0.08	BRL	0.19	BRL	1.09	
8	18.915	BRL	BRL	BRL	0.23	BRL	0.12	0.23	0.05	BRL	0.19	BRL	BRL	BRL	0.11	0.37	0.14	BRL	0.06	0.06	1.57	
10	19.292	BRL	0.12	0.09	0.45	0.06	0.21	0.27	0.05	BRL	0.25	0.05	0.09	0.06	0.10	0.24	0.08	BRL	0.07	BRL	2.27	
12	18.728	BRL	0.19	0.14	0.55	0.06	0.24	0.29	BRL	BRL	0.24	BRL	0.07	0.10	0.08	0.28	0.09	BRL	0.10	BRL	2.47	
24	18.050	0.09	0.18	0.28	1.14	0.11	0.53	0.36	0.05	BRL	0.27	BRL	0.15	0.19	0.09	0.51	0.10	0.15	0.07	BRL	0.05	4.32

替加环素20 mg/mL, 试验#E, (5℃温度, 氧= 2.0 mg/mL)

时间 (小时)	浓度 (mg/mL)	RRT																所有 其他	总 计	
			MW=633	MW=570	MW=572		MW=601	MW=583		差向 异构体		MW=528	MW=556	MW=597						
		0.09	0.10	0.12	0.14	0.23	0.36	0.50	0.55	0.58	0.74	0.76	1.25	1.64	1.67	1.85	2.25	1.45		
1	19.261	BRL	BRL	BRL	BRL	BRL	BRL	BRL	0.07	0.08	0.16	0.05	BRL	0.09	0.08	0.08	BRL	0.08	BRL	0.67
4	19.215	BRL	BRL	BRL	BRL	BRL	BRL	BRL	0.17	0.07	0.17	0.05	BRL	0.10	0.16	0.07	BRL	0.08	BRL	0.96
8	18.970	BRL	BRL	BRL	BRL	BRL	BRL	BRL	0.22	0.07	0.19	0.11	BRL	0.10	0.26	0.09	BRL	0.10	BRL	1.58
12	18.475	0.07	0.12	0.11	BRL	0.61	BRL	0.33	0.33	0.07	0.24	0.12	0.23	0.07	0.39	0.11	0.28	0.08	BRL	3.15
24	17.950	0.10	0.16	0.17	0.10	0.99	0.08	0.46	0.43	0.05	0.28	0.13	0.27	BRL	0.44 ^a	0.12	0.33	0.07	0.07	4.23

Mino为共洗提

替加环素20 mg/mL, 试验#F, (2℃温度, 氧= 1.0 mg/mL)

时间 (小时)	浓度 (mg/ml)	RRT										总计
		MW=570	MW=572	MW=601	MW=583	差向 异构体	MW=556	MW=597	Mino			
		0.14	0.23	0.50	0.55	0.58	0.76	1.64	1.67	1.85	1.45	
1	18.733	BRL	BRL	BRL	BRL	0.08	0.15	BRL	0.10	0.07	0.07	0.47
4	18.700	BRL	BRL	BRL	0.10	0.07	0.16	BRL	0.09	0.09	0.07	0.71
8	18.729	BRL	0.09	0.06	0.13	0.08	0.17	0.07	0.10	0.08	0.09	1.00
12	18.543	BRL	0.13	0.07	0.16	0.07	0.18	0.06	0.09	0.09	0.08	1.07
24	18.818	0.08	0.29	0.12	0.21	0.07	0.19	0.06	0.10	0.08	0.07	1.43

替加环素20 mg/mL, 试验#G, (5℃温度, 氧=1.0 mg/mL)

时间 (小时)	浓度 (mg/ml)	RRT													总计		
		MW=570 0.14	MW=572 0.23		MW=601 0.50	MW=583 0.55		差向 异构体 0.74	0.76	MW=528 1.25	Mino 1.64	MW=556 1.67	MW=597 1.85	2.25		1.45	
1	18.577	BRL	BRL		BRL	BRL	0.08	0.16	BRL								0.58
4	18.694	BRL	0.07	BRL	BRL	0.10	0.07	0.17	BRL	BRL	0.07	0.14	0.08	BRL	0.08	0.08	0.78
8	18.487	BRL	0.17	BRL	0.09	0.13	0.07	0.18	0.05	BRL	0.11	0.17	0.09	BRL	0.07	0.12	1.12
12	18.507	BRL	0.27	BRL	0.13	0.16	0.07	0.20	0.06	BRL	0.07	0.20	0.09	BRL	0.09	0.134	1.34
24	18.587	0.09	0.52	0.06	0.23	0.18	0.08	0.21	0.10	0.05	0.11	0.23	0.10	0.07	0.08	2.09	2.09

试验#H: 替加环素20 mg/mL, (温度5℃, pH 7.9, 氧=1.0 mg/L)

时间 (小时)	浓度 (mg/mL)	RRT														总计
		MW=633 0.12	MW=572 0.23	MW=601 0.50	MW=583 0.55	0.58	9-氨基	差向 异构体 0.74	0.76	MW=557 0.78	Mino 1.64	MW=556 1.67	MW=597 1.85	1.12	1.45	总计
1	19.457	BRL	BRL	BRL	BRL	0.09	BRL	0.19	BRL	BRL	0.12	BRL	0.07	BRL	0.09	0.60
4	19.441	BRL	BRL	BRL	BRL	0.09	BRL	0.20	BRL	BRL	0.09	0.05	0.08	0.11	0.07	0.70
8	19.361	BRL	BRL	BRL	BRL	0.09	BRL	0.19	BRL	BRL	0.10	0.07	0.08	BRL	0.07	0.66
10	19.447	BRL	0.07	BRL	BRL	0.09	BRL	0.25	0.05	BRL	0.11	0.12	0.08	BRL	0.07	0.90
12	20.119	0.05	0.08	BRL	BRL	0.09	BRL	0.27	0.06	BRL	0.10	0.06	0.09	BRL	0.09	0.87
24	19.319	BRL	0.11	0.06	0.05	0.09	BRL	0.23	BRL	BRL	0.15	0.12	0.10	BRL	0.05	1.03

试验#I: 替加环素20 mg/mL, (温度5℃, pH 7.9, 氧=1.0 mg/L)

时间 (小时)	浓度 (mg/mL)	RRT										1.12	1.45	1.58	总计
		MW=633 0.12	MW=572 0.23	MW=601 0.50	MW=583 0.55	0.58	9-氨基 0.64	差向 异构体 0.74	0.76	MW=557 0.78	Mino 1.64	MW=556 1.67	MW=597 1.85		
1	19.263	BRL	BRL	BRL	BRL	0.08	BRL	0.19	BRL	BRL	0.13	BRL	0.06	BRL	0.54
4	19.361	BRL	BRL	BRL	BRL	0.09	BRL	0.21	BRL	BRL	0.10	0.05	0.09	BRL	0.54
8	19.131	BRL	BRL	BRL	BRL	0.06	BRL	0.18	BRL	BRL	0.09	0.05	0.08	BRL	0.53
10	19.204	0.05	0.07	BRL	0.05	0.08	BRL	0.29	0.06	BRL	0.08	0.08	0.10	BRL	0.98
12	19.151	0.06	0.07	BRL	BRL	0.07	BRL	0.26	BRL	BRL	0.08	BRL	0.09	BRL	0.71
24	19.242	BRL	0.12	0.07	0.06	0.10	BRL	0.23	BRL	BRL	0.11	0.09	0.10	BRL	0.96

替加环素20 mg/mL, 试验#J, (8℃温度, 氧= 1.0 mg/mL)

时间 (小时)	浓度 (mg/ml)	RRT										1.45	总计
		0.09	MW=572 0.23	MW=601 0.50	MW=583 0.55	0.58	差向 异构体 0.74	MW=557 0.78	MW=528 1.25	Mino 1.64	MW=556 1.67	MW=597 1.85	
1	19.515	BRL	BRL	BRL	BRL	0.06	0.20	BRL	BRL	0.11	0.09	0.09	0.62
4	19.469	BRL	0.09	0.05	0.08	0.06	0.22	BRL	BRL	0.09	0.17	0.08	0.90
8	19.323	BRL	0.14	0.09	0.08	0.06	0.22	BRL	BRL	0.09	0.15	0.10	1.00
12	19.140	BRL	0.20	0.12	0.09	0.06	0.24	BRL	BRL	0.10	0.19	0.11	1.17
24	19.152	0.05	0.39	0.20	0.14	0.08	0.28	0.07	0.08	0.11	0.21	0.10	1.76

试验#K: 替加环素20 mg/mL, (温度2℃, pH 8.2, 氧=0.1 mg/L)

时间 (小时)	浓度 (mg/mL)	RRT													
		MW=633 0.12	MW=572 0.23	MW=601 0.50	MW=583 0.55	9-氨基 0.64	差向 异构体 0.74	MW=557 0.76	Mino 1.64	MW=556 1.67	MW=597 1.85	1.12	1.45	1.58	总计
1	19.187	BRL	BRL	BRL	BRL	BRL	0.16	BRL	0.12	BRL	0.08	BRL	0.08	BRL	0.51
4	19.324	BRL	BRL	BRL	BRL	BRL	0.18	0.06	0.13	BRL	0.08	BRL	0.08	BRL	0.61
8	19.127	BRL	BRL	BRL	BRL	BRL	0.18	0.08	0.13	BRL	0.08	BRL	0.08	BRL	0.63
10	20.357	BRL	BRL	BRL	BRL	BRL	0.19	BRL	0.15	BRL	0.10	BRL	0.08	BRL	0.59
12	19.956	BRL	BRL	BRL	BRL	BRL	0.22	BRL	0.10	BRL	0.09	BRL	0.09	BRL	0.56
24	19.067	BRL	BRL	BRL	BRL	BRL	0.17	BRL	0.14	BRL	0.08	BRL	0.08	BRL	0.55

试验#L: 替加环素20 mg/mL, (温度2℃, pH 7.7, 氧=0.1 mg/L)

时间 (小时)	浓度 (mg/mL)	RRT													
		MW=633 0.12	MW=572 0.23	MW=601 0.50	MW=583 0.55	9-氨基 0.58	差向 异构体 0.74	MW=557 0.76	Mino 1.64	MW=556 1.67	MW=597 1.85	1.12	1.45	1.58	总计
1	19.23	BRL	BRL	BRL	BRL	0.08	0.17	BRL	0.14	BRL	0.07	BRL	0.08	BRL	0.53
4	19.053	BRL	BRL	BRL	BRL	0.08	0.17	BRL	0.15	BRL	0.08	BRL	0.07	BRL	0.54
8	18.988	BRL	BRL	BRL	BRL	0.08	0.17	0.05	0.13	BRL	0.08	BRL	0.08	BRL	0.60
10	19.424	BRL	BRL	BRL	BRL	0.07	0.22	0.05	0.13	BRL	0.08	BRL	0.07	BRL	0.62
12	19.448	BRL	BRL	BRL	BRL	0.07	0.23	BRL	0.14	BRL	0.08	BRL	0.07	BRL	0.58
24	19.156	BRL	BRL	BRL	BRL	0.09	0.21	BRL	0.13	BRL	0.09	BRL	0.08	BRL	0.61

试验#M: 替加环素20 mg/mL, (温度8℃, pH 7.7, 氧=0.1 mg/L)

时间 (小时)	浓度 (mg/ml)	RRT													
		MW=633 0.12	MW=572 0.23	MW=601 0.50	MW=583 0.55	9-氨基 0.64	差向 异构体 0.74	MW=557 0.76	Mino 1.64	MW=556 1.67	MW=597 1.85	1.12	1.45	1.58	总计
1	19.270	BRL	BRL	BRL	BRL	BRL	0.20	0.06	BRL	BRL	BRL	BRL	BRL	BRL	0.47
4	19.340	BRL	BRL	BRL	BRL	BRL	0.23	0.06	BRL	BRL	0.06	BRL	0.06	BRL	0.57
8	19.238	BRL	BRL	BRL	BRL	BRL	0.24	0.06	BRL	BRL	0.06	BRL	0.07	BRL	0.62
10	19.240	BRL	BRL	BRL	0.03	BRL	0.25	0.05	BRL	(<0.05)	0.08	BRL	0.07	BRL	0.71
12	19.240	BRL	BRL	BRL	0.07	BRL	0.27	0.05	BRL	0.07	0.08	BRL	0.07	BRL	0.73
24	19.193	BRL	BRL	BRL	BRL	BRL	0.29	BRL	BRL	(<0.05)	0.08	BRL	0.09	BRL	0.62

试验#N: 替加环素20 mg/mL, (温度8℃, pH 8.2, 氧=0.1 mg/L)

时间 (小时)	浓度 (mg/ml)	RRT													
		MW=633 0.12	MW=572 0.23	MW=601 0.50	MW=583 0.55	9-氨基 0.58	差向 异构体 0.74	MW=557 0.76	Mino 1.64	MW=556 1.67	MW=597 1.85	1.12	1.45	1.58	总计
1	19.343	BRL	BRL	BRL	BRL	0.07	0.20	BRL	(<0.05)	BRL	0.11	BRL	0.07	BRL	0.46
4	19.378	BRL	BRL	BRL	BRL	0.07	0.21	BRL	0.10	BRL	0.09	BRL	0.07	BRL	0.54
8	19.275	BRL	BRL	BRL	BRL	0.07	0.22	BRL	0.08	BRL	0.08	BRL	0.08	BRL	0.53
1R	19.415	BRL	BRL	BRL	0.06	0.06	0.29	0.05	0.08	BRL	0.09	BRL	0.09	BRL	0.72
12	19.382	BRL	BRL	BRL	0.07	0.06	0.31	BRL	0.11	0.07	0.08	BRL	0.08	0.05	0.83
24	19.211	BRL	BRL	BRL	BRL	0.06	0.31	BRL	0.13	0.07	0.11	BRL	0.10	0.05	0.82

替加环素20 mg/mL, 试验#O, (5°C温度, 氧= 0.1 mg/mL)

时间 (小时)	浓度 (mg/ml)	RRT						
		0.58	差向异构体 0.74	0.76	Mino 1.64	MW=597 1.85	1.45	总计
1	18.777	0.07	0.21	0.05	0.08	0.08	0.07	0.56
4	18.971	0.09	0.23	BRL	0.08	0.08	0.07	0.53
8	19.051	0.09	0.23	BRL	0.06	0.09	0.09	0.55
12	18.722	0.07	0.24	BRL	0.08	0.10	0.07	0.55
24	19.238	0.07	0.25	BRL	0.11	0.06	0.07	0.56

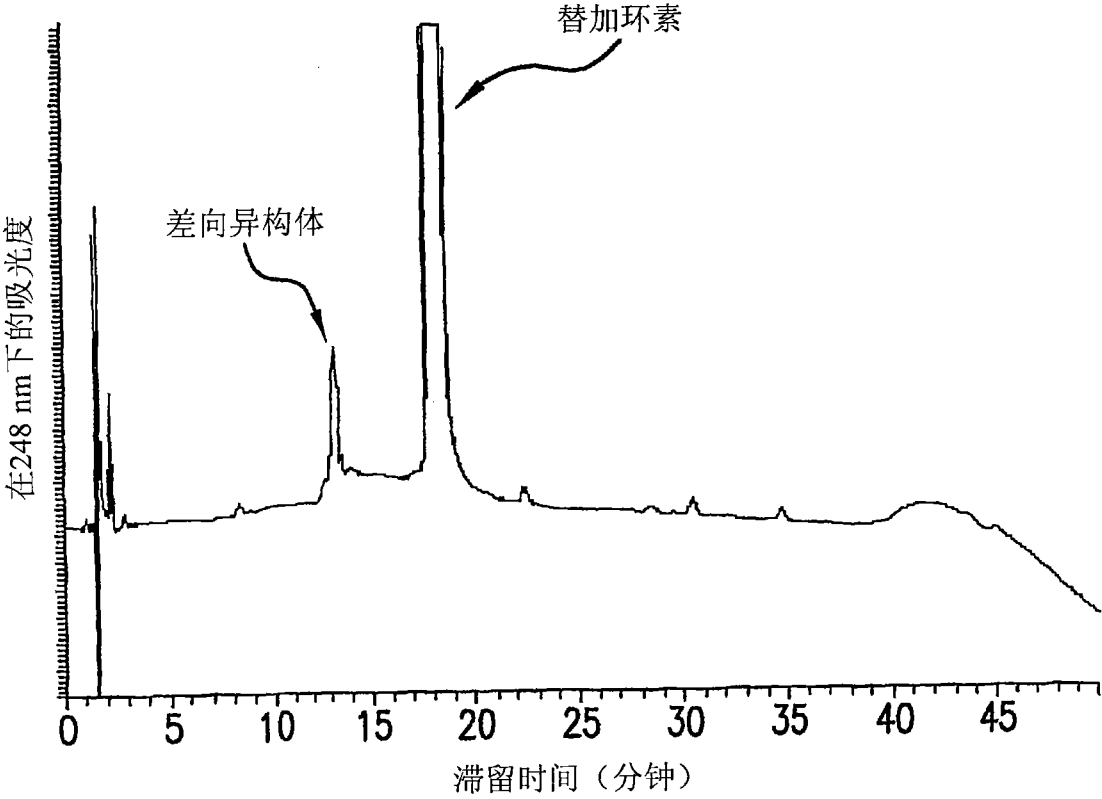


图1

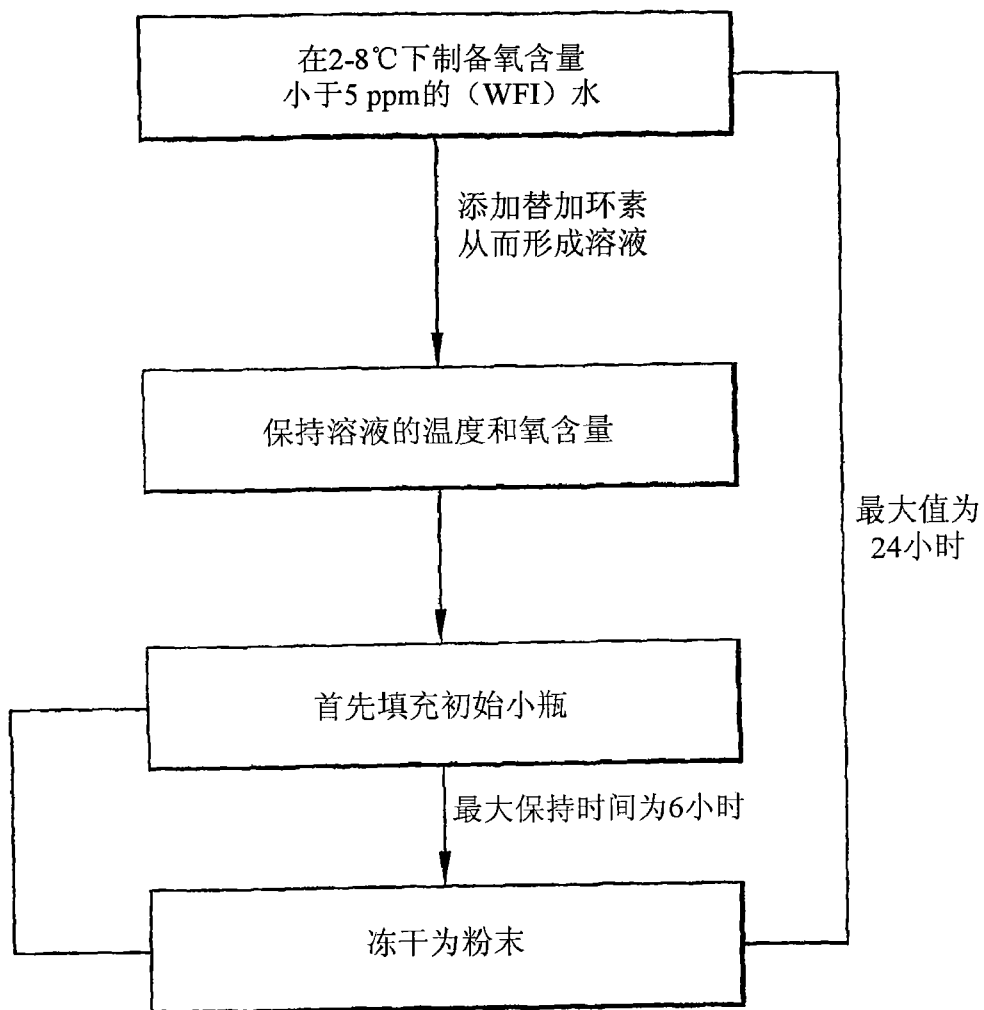


图2