

## 磷霉素钠制备磷霉素氨丁三醇的工艺研究\*

黄 晨<sup>1</sup>, 严 晶<sup>1</sup>, 丁一刚<sup>2</sup>, 王 超<sup>3</sup>(1. 长江大学工程技术学院, 湖北荆州 434000; 2. 武汉工程大学, 武汉 430073;  
3. 湖北省阳新县科技局, 湖北黄石 435200)

**摘要:**目的 采用新型合成法制备磷霉素氨丁三醇, 研究其合成工艺条件和析晶条件。方法 无机酸式盐法, 以磷霉素钠与氨丁三醇和硫酸的混合酸式盐进行中和反应制得磷霉素氨丁三醇。结果 优化反应和结晶条件后可生成磷霉素氨丁三醇。结论 无机酸式盐法合成工艺可行, 收率高。

**关键词:**磷霉素氨丁三醇; 无机酸式盐法; 合成; 工艺

**中图分类号:** TQ463

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1671-8348(2015)05-0678-03

## Technology research on the preparation of fosfomycin trometamol from fosfomycin sodium

Huang Chen<sup>1</sup>, Yan Jing<sup>1</sup>, Ding Yigang<sup>2</sup>, Wang Chao<sup>3</sup>

(1. School of Technology, Changjiang University, Jingzhou, Hubei 434000, China; 2. Wuhan University of Engineering, Wuhan, Hubei 430073, China; 3. Yangxin County Science and Technology Bureau of Hubei Province, Huangshi, Hubei 435200, China)

**Abstract: Objective** to investigate a new synthesis for the preparation of fosfomycin tromethamine and to seek for the optimized process and crystallization conditions. **Methods** An inorganic method, utilizing in situ generated tromethamine bisulfate to react with fosfomycin sodium was used to gain fosfomycin tromethamine. **Results** After the optimization of reaction and crystallization condition, it can produce fosfomycin tromethamine. **Conclusion** Inorganic acid salt synthesis technology is feasible with high yield.

**Key words:** fosfomycin trometamol; inorganic bisalt method; synthesis; process

磷霉素作为常见的天然广谱抗菌药物, 其作用机制是通过与细菌细胞壁合成酶相结合, 阻碍细菌细胞壁的早期合成, 从而达到杀菌的目的, 对大多数革兰阳性菌和革兰阴性菌均有一定的抗菌作用<sup>[1]</sup>, 同时具备毒性低、无抗原性、药效温和、作用时间长、无过敏性等优点, 疗效仅次于青霉素, 主要用于治疗尿路、皮肤、软组织及肠道等部位的感染<sup>[2-3]</sup>。磷霉素因其结构的不稳定性常以盐的形式作为药物治疗, 其中磷霉素钠多用于注射给药但存在局部刺激性<sup>[4]</sup>, 磷霉素钙多用于口服给药, 但药物生物利用率低, 仅为 30%~40%, 无法达到应有的药物血液浓度水平<sup>[5]</sup>。磷霉素氨丁三醇为磷霉素的氨丁三醇盐, 克服了磷霉素金属盐的一些缺陷, 具有药效温和, 口服吸收浓度高, 作用时间长等优点, 是一种更温和和更有效的抗菌药物, 它能直接阻止细菌细胞壁合成所必需的丙酮酸转移酶的作用, 其抗菌谱包括大肠杆菌、痢疾杆菌、枸橼酸杆菌、变形杆菌、沙雷菌、金黄色葡萄球菌及铜绿假单胞菌等, 适用症状主要用于对本品敏感的致病菌所引起的下尿路感染, 如膀胱炎、尿道炎<sup>[6-8]</sup>。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 目前磷霉素氨丁三醇的合成方法主要是离子交换法和复分解法, 离子交换法通过采用 H 型阳离子交换树脂置换和加成等步骤合成目标产物; 复分解法主要是通过有机酸、氨丁三醇结合后与原料磷霉素钠作复分解反应制得产物, 是目前工业生产磷霉素氨丁三醇的主要工艺。

**1.2 试剂与仪器** 磷霉素钠(湖北康宝泰精细化工, 98%)、氨丁三醇(东阳市天宇化工有限公司, 99%)、甲醇(国药集团化学试剂有限公司, 99.5%)、浓硫酸(天津渤海化工集团, 98%)、蒸馏水(实验室自制)。ZK-82B 型电热真空干燥箱(上海实验仪器厂有限公司)、SZCL-2A 数显智能控温磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限责任公司)、RE-52AA 旋转蒸发器(上海亚荣生

仪器厂)、Nicolet 6700 傅里叶红外光谱仪(美国 Thermo Electron 公司)、VNMR5 600 核磁共振波谱仪(美国 Varian 公司)、UltiMate3000 高效液相色谱(美国戴安公司)、ELSD2100 蒸发光检测器(英国 Ploymer Labs 公司)。

## 1.3 方法

**1.3.1 合成方法** 将一定浓度的硫酸溶液和一定质量的氨丁三醇加入到烧杯中完全溶解, 再缓慢滴加到磷霉素钠水溶液中, 搅拌。反应完毕后低压浓缩蒸干, 加入甲醇析出 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub><sup>[9]</sup>, 过滤, 滤液以正丁醇低温析晶。

**1.3.2 检验方法** 合成产品采用核磁共振和红外作定性检测, 高效液相-蒸发光检测器作定量检测。

## 2 结 果

**2.1 各反应条件对合成产物收率影响** 分别考察反应中合成温度、合成时间、硫酸浓度、氨丁三醇酸式硫酸盐和磷霉素钠配比等因素对合成产物磷霉素氨丁三醇收率的影响, 正交实验结果见表 1。因正交影响因素较多, 数据量大, 在对数据作相关性分析后仅保留影响明显的的数据结果于表中显示。在工艺优化正交实验中除了考察上述条件, 作者亦研究了反应温度为 50℃; 反应时间为 1.0、1.5 h; 酸浓度为 2 mol/L 以及配料比为 1:1 时的情况, 但这几类情况对原料结构破坏较大, 晶体状态不稳定, 不作数据研究; 研究“酸式盐与磷霉素钠配比”为 0.8 时, 因酸式盐过少, 磷霉素钠反应不完全, 各项数据皆劣于配比为 0.9 时的结果, 因此数据不予展示。在最优合成条件下, 产物收率达到 95.1%。

## 2.2 产物析晶条件

**2.2.1 析晶温度** 析晶温度升高, 产物和杂质的溶解度皆增大, 不利于析出, 溶液呈白色混浊状, 无晶体析出, 产率为 0; 降低温度至 20℃, 析出非晶体的白色凝胶状物质, 为晶核被多重

包裹的结果,产率为 0;降低温度至 8 ℃,析出白色絮状物,此时产品杂质多,熔点低,抽滤后极易在空气中潮解成胶装,产率为 0;降低温度至 4 ℃,开始析出白色粉末状晶体,需 N<sub>2</sub> 保护下抽滤,收率为 82.2%。实验测得在 -2~4 ℃ 可有较好的磷霉素氨丁三醇白色粉末状晶体析出,再降低温度则耗能较大。在 -2~4 ℃ 区间再细化析晶温度,发现温度高时,产品析晶纯度大,但是状态不稳定,搅拌速率稍快或者稍慢都容易发生胶体凝结析不出晶体,或晶体呈含有包裹物的颗粒状;3 ℃ 下平均收率为 89.4%,2 ℃ 下平均收率为 91.8%,1 ℃ 下平均收率为 95.1%, -1 ℃ 下平均收率为 96.7%,3 ℃ 下平均收率为 96.1%;温度零下时,杂质含量增大,晶体生长缓慢导致析晶时间延长,因此综合考虑 1 ℃ 为最优析晶温度。

表 1 各反应条件对产品收率的影响

序号	反应温度 (℃)	反应时间 (h)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 浓度 (mol/L)	酸式盐与磷霉素钠配比	收率 (%)
1	30	2.0	0.5	0.9	93.6
2	20	2.5	0.5	0.9	88.5
3	30	2.5	0.5	0.9	94.1
4	40	2.5	0.5	0.9	94.4
5	20	3.0	0.5	0.9	88.0
6	30	3.0	0.5	0.9	93.9
7	40	3.0	0.5	0.9	93.4
8	20	2.0	1.0	0.9	88.0
9	30	2.0	1.0	0.9	94.3
10	40	2.0	1.0	0.9	94.5
11	20	2.5	1.0	0.9	89.2
12	30	2.5	1.0	0.9	95.1
13	40	2.5	1.0	0.9	93.6
14	20	3.0	1.0	0.9	88.3
15	30	3.0	1.0	0.9	93.3
16	40	3.0	1.0	0.9	92.7
17	30	2.0	1.5	0.9	92.4
18	40	2.0	1.5	0.9	93.7
19	20	2.5	1.5	0.9	87.9
20	30	2.5	1.5	0.9	93.9
21	40	2.5	1.5	0.9	94.2
22	30	3.0	1.5	0.9	91.8

**2.2.2 析晶速率** 磷霉素氨丁三醇析晶过程较复杂,低温条件析晶液浓度高,产物溶液量少,能快速生成晶体,因此随着产物的甲醇溶液不断滴入正丁醇中,溶解能力减小,析晶溶剂先变成白色半透明溶液,逐渐有白色絮状半固体悬浮于溶液中。若析晶液滴加过快,溶剂快速达到过饱和界区,形成的晶核还未来得及长成规则晶体则被包裹,絮状物易结块附着于内壁,限制晶体后续生长。此时需减缓滴加速度,持续搅拌则有粉末状白色晶体产生。试验得滴加速率为 20 mL/h,滴加完毕后持续保温搅拌 2 h 可得到良好晶体。抽滤,烘干,称质量。

**2.3 红外检测结果** 经红外检测(图 1)可在图谱上看出 1 250 cm<sup>-1</sup>处环氧烷峰、1 080 cm<sup>-1</sup>处磷酸基团峰,氨丁三醇结构在 1 050 cm<sup>-1</sup>处 C-N 伸缩振动,1 520 cm<sup>-1</sup>处一级胺的面内 δN-H 弯曲振动,及 1 100 cm<sup>-1</sup>处有强的仲醇峰,可判断生成产物即为目标产物磷霉素氨丁三醇。

**2.4 核磁检测结果** 利用氘代水(D<sub>2</sub>O)溶解产物后作核磁检测,图 2 为标准品检测图谱,图 3 为制备产物检测图谱。由检测图谱可以看出:高于 4.000 ppm 处所出现的峰为溶剂峰;

3.550 ppm 处为氨丁三醇结构中季碳相邻的-CH<sub>2</sub>的 H 的单峰;3.170 ppm 处为磷霉素结构中甲基相邻的-CH 的 H 的四重峰;2.700 ppm 处的四重峰为磷霉素结构中磷酸基团相邻的-CH 的 H 峰;1.300 ppm 处为磷霉素结构中-CH-相邻的甲基的 H 峰;1.087 处为杂质峰。四处峰面积积分分别为 57.88、8.27、7.83、23.07,比例约为 7:1:1:3,符合所测基团的 H 原子个数比,因此可以鉴定生成物为磷霉素氨丁三醇。

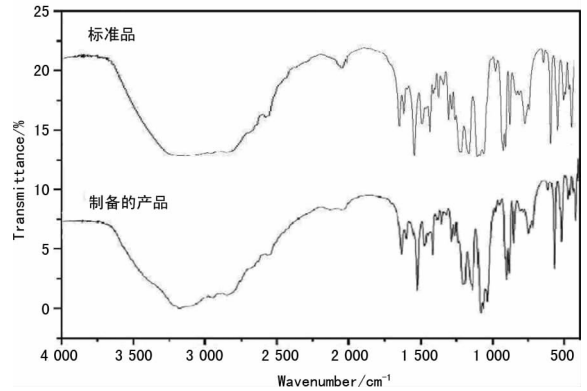


图 1 磷霉素氨丁三醇产品和标准品红外对比图

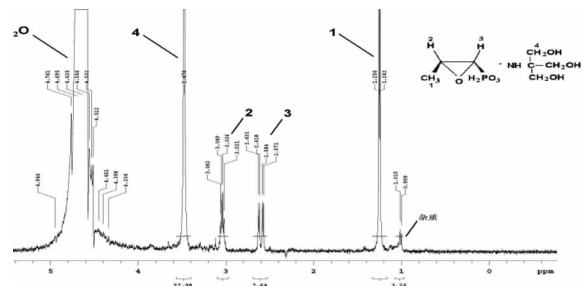


图 2 磷霉素氨丁三醇标准品核磁检测图谱

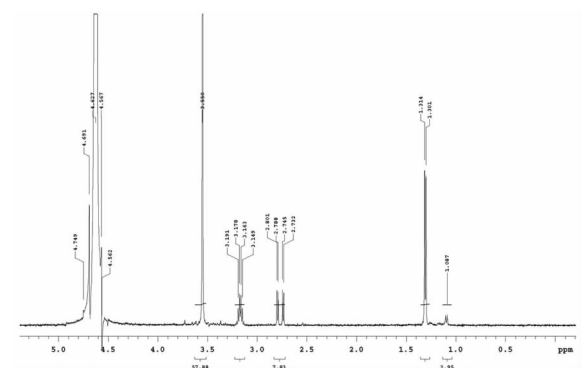


图 3 磷霉素氨丁三醇产物核磁检测图谱

**2.5 液相定量检测** 磷霉素氨丁三醇结果对紫外不显色,因此采用蒸发光散射检测器对产物进行检测。首先配制不同浓度磷霉素氨丁三醇标准品绘制液相检测标准曲线,然后配制相同浓度产物在相同条件下作液相检测,检测结果带入标准曲线计算出产物纯度,进而计算出产物总收率。

**3 讨论**

在磷霉素氨丁三醇各类合成方法中,离子交换法是在低温环境下将磷霉素相关物质(磷霉素钠、磷霉素氨丁三醇等)与 H 型阳离子交换树脂于溶媒中进行质子置换,制得游离的磷霉素酸,然后将磷霉素酸与氨丁三醇加合得产品。此方法反应直接,无过多的有机杂质参与和残留,产率较复分解法更高,后期的废液处理也更简单。但反应条件苛刻,要求低温 -20~10 ℃,而且树脂和甲醇消耗量大,经济效益低;复分解法又细

划为两类:对甲基苯磺酸法和有机酸式盐法,对甲基苯磺酸法是以对甲苯磺酸作为强酸与磷霉素双氨丁三醇加热,催化除胺制备磷霉素氨丁三醇,此类方法中对甲苯磺酸参与反应,容易残留在产品中且废液不好回收,污染大;有机酸式盐法中原料多为磷霉素钙盐或二钠盐,与氨丁三醇的有机酸式盐发生酸碱中和的复分解反应,氨丁三醇取代碱金属离子生成磷霉素氨丁三醇。此方法反应现象明显,步骤简单,试剂选择灵活,产率较高,但产品中易混有有机杂质,特别是与氨丁三醇结合的有机酸。此外,产品反应过程中生成的副产物羧酸盐和析晶废液不易分离回收,析晶液的选择也存在很大问题,造成大量浪费。本文对工业合成方法中的有机酸改进为无机酸,反应速率加快,无机盐产物在有机溶剂中极易析出,克服了杂质多、废液不易回收等缺点,是一种适用于工业生产的绿色环保合成路线。

磷霉素结构中含有不稳定的环氧烷结构,此结构在酸、碱或者高温情况下都易水解开环,形成带有两个醇羟基的副产物,此副产物为磷霉素四大杂质中含量最高的一种,且易与水或磷霉素结构发生络合,极难去除,因此要尽量避免开环现象。

在研究反应温度时,温度升高,分子运动速率加大,反应加快,但温度升高磷霉素易与双氨丁三醇分子结合生成磷霉素二氨丁三醇副产物,再升高温度则导致磷霉素结构中的环氧烷开环形成二醇物杂质;温度降低,分子运动不活泼,且水溶液低温易结冰,阻碍反应。实验发现当温度低于 15 ℃ 时反应中有白色晶体生成,升高温度至 20 ℃ 则快速溶解。红外检测此晶体为未参与反应的磷霉素钠。

产物随反应时间延长而增多,但要注意,时间过长则反应物浓度不断降低,发生逆反应,且磷霉素氨丁三醇在水溶液中易缓慢分解。相较于碱性,磷霉素中环氧烷在酸性条件下更容易开环,因此配置氨丁三醇酸式硫酸盐时硫酸溶液的浓度影响较大。浓硫酸无电离,水的加入使浓硫酸浓度减小,硫酸分子团开始稀释成的硫酸分子在水溶液中电离出  $H^+$ ,随着水的增多硫酸分子电离程度增大, $H^+$  浓度增大,溶液酸性增强对环氧烷造成破坏,会导致杂质增多,收率快速下降。

综上所述,本研究确定最佳条件为反应温度 30 ℃,时间 2.5 h,硫酸浓度 1 mol/L,氨丁三醇酸式盐与磷霉素钠摩尔配比 0.9 : 1.0,收率可达 95.1%。选择正丁醇为析晶溶剂,在 1

℃ 下采用机械搅拌,磷霉素氨丁三醇的甲醇滴加溶液速率为 20 mL/h,滴加完毕后持续保温搅拌 2 h,正丁醇:制备得磷霉素氨丁三醇甲醇溶液(V/V)=2 : 1 时为最优析晶条件。

#### 参考文献:

- [1] Antonia CK, Petros IR, Evridiki KV, et al. Synergy of fosfomycin with other antibiotics for Gram-positive and Gram-negative bacteria[J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2010, 66:359-368.
- [2] Baylan O. Fosfomycin: past, present and future[J]. *Mikrobiyol Bul*, 2010, 44(2):311-321.
- [3] Popovic M, Stenior D, Pillai S, et al. Fosfomycin: an old, new friend[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2010, 29: 127-142.
- [4] 张旭东. 磷霉素钠的临床用药分析[J]. *包头医学院学报*, 2011, 27(2):141-142.
- [5] 肇丽梅, 孙亚欣, 邱枫, 等. 磷霉素钙在中国健康志愿者体内药理学[J]. *中国药理学杂志*, 2008, 43(20):1585-1587.
- [6] Schito GC, Moreddu M, Nicoletti G, et al. Susceptibility of frequent urinary pathogens to fosfomycin trometamol and eight other antibiotics: Results of an Italian multicenter survey[J]. *Infection*, 1992, 20(4):291-295.
- [7] Greenwood D. Fosfomycin trometamol: Activity in vitro against urinary tract pathogens[J]. *Infection*, 1990, 18(2): 60-64.
- [8] Ömer B, Ersin C, Ilknur I, et al. Is single-dose fosfomycin trometamol a good alternative for asymptomatic bacteriuria in the second trimester of pregnancy[J]. *Int Urogynecol J*, 2007, 18(5):525-529.
- [9] Lu WZ, Liu XL, Xiao ZJ. Measurement and simulation of  $NaNO_2$  and  $Na_2SO_4$  solubility in methanol and water[J]. *Shanghai Chem Ind*, 2007, 32(1):18-21.

(收稿日期:2014-10-08 修回日期:2014-12-15)

(上接第 677 页)

- [4] Alfredson H, Cook J. A treatment algorithm for managing Achilles tendinopathy: new treatment options [J]. *Br J Sports Med*, 2007, 41(4):211-216.
- [5] Carcia CR, Martin RL, Houck J, et al. Orthopaedic section of the American physical therapy association. Achilles pain, stiffness, and muscle power deficits: Achilles tendinitis [J]. *J Orthop Sports Phys Ther*, 2010, 40(9):A1-26.
- [6] 姚伟, 华英汇, 陈世益, 等. 体外冲击波治疗跟腱止点腱病和非止点腱病的疗效对比分析 [J]. *中国运动医学杂志*, 2012, 31(1):59-61.
- [7] Vulpiani MC, Trischitta D, Trovato P, et al. Extracorporeal shockwave therapy (ESWT) in Achilles tendinopathy. A long-term follow-up observational study [J]. *J Sports Med Phys Fitness*, 2009, 49(2):171-176.
- [8] 王义亮, 杨芳. 冲击波配合足底康复训练治疗跟痛症 135 例疗效观察 [J]. *重庆医学*, 2009, 38(13):1608-1609.
- [9] Rompe JD, Furia JP, Maffulli N. Mid-portion Achilles tendinopathy—current options for treatment [J]. *Disabil*

*Rehabil*, 2008, 30(20/21/22):1666-1676.

- [10] Rasmussen S, Christensen M, Mathiesen I, et al. Shock-wave therapy for chronic Achilles tendinopathy: a double-blind, randomized clinical trial of efficacy [J]. *Acta Orthop*, 2008, 79(2):249-256.
- [11] Rompe JD, Nafe B, Furia JP, et al. Eccentric loading, shock-wave treatment, or a wait-and-see policy for tendinopathy of the main body of tendo Achillis: a randomized controlled trial [J]. *Am J Sports Med*, 2007, 35(3):374-383.
- [12] Costa ML, Shepstone L, Donell ST, et al. Shock wave therapy for chronic Achilles tendon pain: a randomized placebo-controlled trial [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2005, 440:199-204.
- [13] Lakshmanan P, O'Doherty DP. Chronic achilles tendinopathy: treatment with extracorporeal shock waves [J]. *Foot Ankle Surg*, 2004, 10(3):125-130.

(收稿日期:2014-10-30 修回日期:2014-12-17)