

## 乙醇-水溶剂体系结晶阿奇霉素的晶体差异分析

蒋德华<sup>1</sup>, 林锦明<sup>2</sup>, 陈建明<sup>2</sup>, 王小燕<sup>2</sup>, 李渊源<sup>1</sup>, 周长江<sup>2</sup> (1. 第二军医大学研管大队, 上海 200433; 2. 第二军医大学药学院, 上海 200433)

**[摘要]** 目的 探索不同条件下乙醇-水溶剂体系产生的阿奇霉素晶体差异。方法 以乙醇-水为溶剂体系, 采用不同的结晶条件制备阿奇霉素晶体, 运用差热分析(TDA)和 X-ray 衍射法(XRD)对阿奇霉素晶体进行初步研究, 并用核磁共振(C-NMR)对阿奇霉素样品进行了确证。结果 得到了 4 种具有不同 DTA 和 XRD 特征的晶型阿奇霉素样品。结论 获得了阿奇霉素多晶型相关的热力学数据、XRD 特征、不同晶型的结晶条件(温度、压强、析晶方式等), 为晶体结晶方法的研究开阔了思路。

**[关键词]** 阿奇霉素; 多晶型; 差热分析; X-ray 衍射法

**[中图分类号]** R978.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2011)05-0356-03

## Analysis of crystal differences of azithromycin precipitated in ethanol-water mixed solvents

JIANG De-hua<sup>1</sup>, LIN Jing-ming<sup>2</sup>, CHEN Jian-ming<sup>2</sup>, WANG Xiao-yan<sup>2</sup>, LI Yuan-yuan<sup>1</sup>, ZHOU Chang-jiang<sup>2</sup> (1. Graduates Management Brigade, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**[Abstract]** **Objective** To study the crystal differences of azithromycin precipitated in ethanol-water mixed solvents. **Methods**

By differential thermal analysis (DTA), X-ray powder diffraction and C-NMR analysis, the polymorphism of azithromycin were discussed by change the conditions of precipitation to precipitate crystal in ethanol-water mixed solvents. **Results** 4 kinds of azithromycin isample which had different DTA and XRD characteristics were acquired. **Conclusions** The DTA and X-ray diffraction characters of azithromycin were obtained, and conditions such as temperature and pressure could expand the research thinking of crystallization.

**[Key words]** azithromycin; polymorphism; DTA; XRD

阿奇霉素是世界上第一个 15 元环大环内酯类抗生素, 其对革兰阳性菌、革兰阴性菌、厌氧菌以及细胞内病原体等敏感。临床上主要用于呼吸道感染, 泌尿系统感染、皮肤及软组织感染、性传播疾病等。目前, 阿奇霉素依然是治疗婴幼儿呼吸道感染, 以及用于抢救儿童极重型全身弓形虫病常用的药品<sup>[1]</sup>, 阿奇霉素存在多晶型<sup>[2-5]</sup>, 中国药典(2010 版) 收录了该品种。

一般情况下, 多晶型药物要得到不同的晶型, 改变溶剂体系是最常用的方法, 如尼莫地平、法莫替丁、棉酚等。我们以乙醇-水作为溶剂体系, 通过改变条件对阿奇霉素进行结晶, 采用差热分析(DTA)、X 射线衍射法(XRD)对阿奇霉素晶体进行了分析研究。

### 1 实验部分

**1.1 仪器与试剂** Diamond TG/DTA(日本精工); Rigaku D/max 2500 X 射线衍射仪(日本理学株式会社); TD5A 离心机(凯特实验仪器公司); GZX 干燥箱(上海楚柏设备有限公司)。阿奇霉素原料药(浙江国邦药业有限公司, 批号: 081027-1); 无水乙醇(上海国药公司, 分析纯), 实验用水为去离子水

**1.2 阿奇霉素晶体的制备** 称取一定量的原料药, 完全溶解于适量乙醇中, 将 7 倍体积的水倒入上述溶液中, 3 000 r/min 离心 15 min, 弃上清液, 常温真空干燥, 得样品 A。将原料药用乙醇溶解, 加入适量水(无沉淀产生), 分成 3 份, 一份 50 °C 常压蒸发析晶, 得样品 B; 一份 25 °C 真空蒸发析晶, 得样品 C; 一份 25 °C 常压蒸发析晶, 得样品 D。测量前, 所有样品均在真空干燥箱中干燥 24 h。

**1.3 阿奇霉素的晶体表征** ①DTA/TG 仪器参数设置: 起始温度 35 °C, 终止温度 220 °C, 升温速率 10 °C/min, 样品用量约为 2mg。②粉末 X-ray 衍射测试条件: Cu K-Alpha1, 40KV-60mA(工作电压-电

**[基金项目]** 第二军医大学创新能力培养计划: 反溶剂重结晶法研究固体药物多晶型(MS2010042)。

**[作者简介]** 蒋德华(1989-), 男, 药学本科在读。E-mail: jiangdehua81@sina.com

**[通讯作者]** 周长江. Tel: (021)81871342, E-mail: zhouc6@yahoo.com.cn

流), DS = SS = 1°, RS = 0.15 mm(狭缝), 2θ。

## 2 结果

图1为原料药及样品A、B、C和D的DTA图谱。

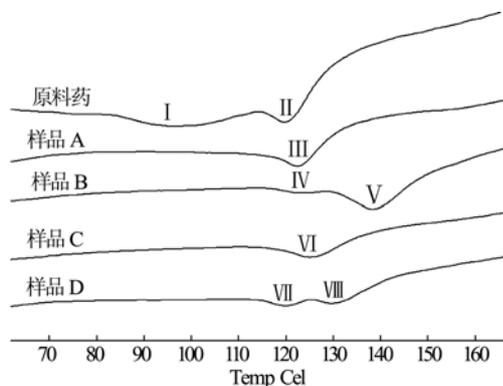


图1 阿奇霉素晶体 DTA 图谱

从图1上可以看出,阿奇霉素原料药的 DTA 图谱出现2个峰(I、II), I 峰的熔距为 83.9 ~ 92.1 °C, II 峰的熔距为 116.7 ~ 121.3 °C; 样品 A 的 DTA 图谱峰为单峰(III), 其熔距为 117.1 ~ 121.2 °C; 样品 B 的 DTA 图谱峰为双峰, IV 峰的熔距为 116.4 ~ 122.9 °C, V 峰的熔距为 130.9 ~ 138.1 °C; 样品 C 存在单峰 VI, 熔距为 119.9 ~ 124.7 °C; 样品 D 存在双峰, VII 峰的熔距为 115.9 ~ 119.7 °C, VIII 峰的熔距为 124.4 ~ 130.0 °C。

图2为原料药、样品A、B、C和D的TG/DTG图谱。

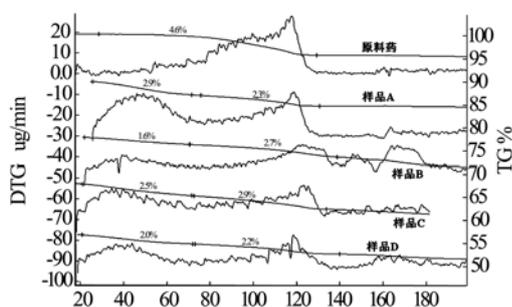


图2 阿奇霉素晶体的 TG/DTG 图谱

采用 DTG 作为 TG 失重峰的辅助判断标准, 由图2可知, 样品 A、B、C 和 D 均具有两次失重峰, 第一个失重峰可能为表面吸附水和乙醇溶剂分子所引起的, 70 °C 烘干 24 h 该峰消失; 第二峰为结晶水失重峰。以原料药进行重复性试验, 重现性良好。失重值见表1。

一水阿奇霉素理论失重值为 2.35%, 二水阿奇霉素的理论失水值为 4.59%, 由此推测: 原料药为

二水阿奇霉素; 样品 A 为一水阿奇霉素; 样品 B、C 和 D 均以一水阿奇霉素为主, 样品 D 可能含有无水阿奇霉素。

表1 阿奇霉素晶体的失重值(%)

样品	总失重	第一次失重	第二次失重
原料药	4.6	/	/
A	5.2	2.83	2.37
B	4.3	1.56	2.74
C	5.4	2.43	2.97
D	4.4	2.16	2.24

图3为原料药、样品A、B、C和D的X-ray衍射(XRD)图谱。

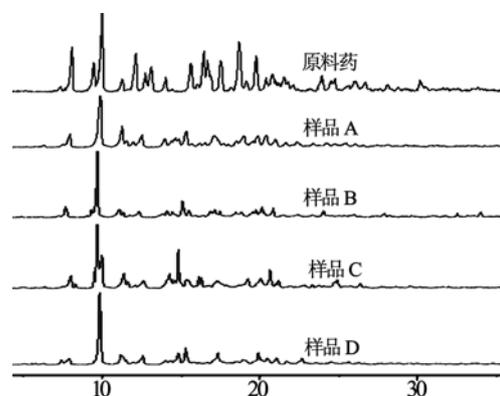


图3 阿奇霉素的 XRD 图谱

从图3可以看出, 以乙醇-水为溶剂体系制得的阿奇霉素晶体与原料药晶型不同, 通过将 XRD 图谱与文献<sup>[6]</sup>中样品图谱进行比照, 可以判定原料药为二水阿奇霉素, 样品 A 为一水阿奇霉素, 样品 B、C 和 D 均包含一水阿奇霉素晶体, 与根据 TG/DTG 图谱得出的推断一致。通过 C-NMR 分析确证了样品 A、B、C 和 D 均为阿奇霉素, 在图4中, 样品图谱中出现了 58.11 ppm 的峰, 表明样品中含有溶剂乙醇分子。由此可知, 以同一种溶剂体系和不同的结晶条件得到的阿奇霉素晶体之间, 其 XRD 图存在差异, 晶型也不同。

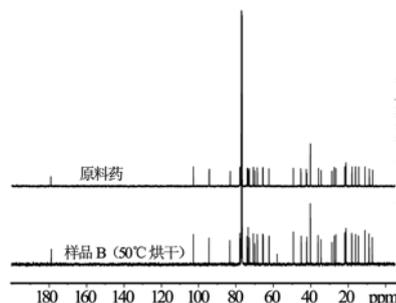


图4 阿奇霉素晶体的 C-NMR 图谱

(下转第365页)

### 3 讨论

所合成的10个目标化合物均未见文献报道,其结构经元素分析、红外光谱和核磁共振谱所证实,数据见表1。在以乙酰苯胺制备中间体6-(4-氨基苯基)-4,5-二氢-3(2H)-咪嗪酮时,反应中间产物可不经精制,直接投入下步反应,简化了操作。在目标化合物制备过程中,把反应液直接倾入到水中,过滤即得目标化合物,避免了文献报道的柱层析等复杂的操作。初步的体外药理结果表明(表2),所有目标化合物都有不同程度的体外抑制ADP诱导的新西兰大白兔血小板聚集作用,且都强于对照化合物MCI-154和CCI-17810。其中化合物9f的活性最强,IC<sub>50</sub>为MCI-154的25倍,是CCI-17810的33倍,此外,化合物9b、9c、9j也显示了较强的活性。化合物9f等的作用机制及其他药理作用还有待于进一步的研究。从上面的药理活性数据来看,R基团引入取代杂环可以增强其血小板聚集的抑制作用,但

由于目标化合物的数目有限,难以得出构效关系的结论,有待于进一步的研究。

### 【参考文献】

- [1] Bristol JA, Sircar L, Moos WH, *et al.* Cardiotonic agents. 1. 4, 5-Dihydro-6-[4-(1H-imidazol-1-yl) phenyl]-3(2H)-pyridazinones: novel positive inotropic agents for the treatment of congestive heart failure[J]. *J Med Chem*, 1984, 27(9): 1099.
- [2] 蒋勤, 孙常晟. 6-(4-取代苯基)-4,5-二氢-3(2H)-咪嗪酮类化合物的合成及其抑制血小板的作用[J]. *药学报*, 1990, 25(8): 598.
- [3] Mikashima H, Nakao T, Goto K. Y-590 (A new pyridazinone derivative), a potent anti-thrombotic agent-I. Effect on platelet function[J]. *Thromb Res*, 1983, 31(4): 599.
- [4] 王恩思, 沈家聪. 新型强心药匹莫苯的合成[J]. *中国药物化学杂志*, 1997, 7(3): 185.
- [5] Bom GVR. Aggregation of bloodplatelets by adenosine diphosphate and its reversal[J]. *Nature*, 1962, 194(4832): 927.

[收稿日期] 2011-05-10

[修回日期] 2011-08-26

(上接第357页)

### 3 讨论

**3.1 阿奇霉素晶体的制备** 以乙醇-水为溶剂体系可以制备出一水阿奇霉素晶体。结晶时如果改变体系的温度、压强或结晶方式,获得的固体阿奇霉素样品的DTA图谱及XRD图谱不同,这可为阿奇霉素多晶型的制备或生产提供理论参考。

**3.2 分析方法比较** 通过比较粉末X-ray衍射图谱可以看出,XRD图谱可以提供更加丰富、细致的粉末晶体的数据,但是无法从单一的图谱上区分化合物的晶体是单晶还是混晶,而借助DTA图谱,这种差异(峰位置、大小、形体、数量等)就显得简单、直观,不需要再通过与单晶的数据进行比较。在难以得到单晶数据的情况下,使用DTA及TG/DTG图谱表征、判断晶体的情况比XRD法更加方便。

从DTA和X-ray衍射图谱可以看出,以乙醇-水为溶剂,改变制备条件会得到不同晶型的阿奇霉素,可见在生产固体阿奇霉素的时候需要严格控制工艺参数。不同的阿奇霉素晶型具有不同的吸湿性<sup>[6,7]</sup>,多晶型的存在往往使临床准确用量产生困难,因而单一晶型的制备或混晶的纯化工作具有非

常现实的意义。

### 【参考文献】

- [1] 王英杰,李玉琴. 阿奇霉素的一般药理研究[J]. *山东医药工业*, 2000, 19(1): 76.
- [2] Ghobad M, Hadi V, Mohammad BJ, *et al.* Development of azithromycin-PLGA nanoparticles; Physicochemical characterization and antibacterial effect against *Salmonella typhi* [J]. *Colloid Surface B*, 2010, 80: 34.
- [3] Gandhi R, Pillai O, Thilagavathi R, *et al.* Characterization of Azithromycin hydrates [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2002, 16: 175.
- [4] Blanco M, Valdés D, Bayod MS, *et al.* Characterization and analysis of polymorphs by near-infrared spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2004, 502: 221.
- [5] Zhang Z, Zhu YH, Yang XL, *et al.* Preparation of azithromycin microcapsules by a layer-by-layer self-assembly approach and release behaviors of azithromycin [J]. *Colloid Surface A*, 2010, 362: 135.
- [6] 辉瑞产品公司. 阿奇霉素的晶型 [P]. 中国专利. CN1780847A, 2006-05-31.
- [7] 韩国药品株式会社. 阿奇霉素水合物与1,2-丙二醇的包合物,其制备方法及其包含其的药物组合物 [P]. 中国专利. CN1505629A, 2004-06-16.

[收稿日期] 2011-03-01

[修回日期] 2011-05-24