



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103288664 A

(43) 申请公布日 2013.09.11

(21) 申请号 201310143399.4

A61P 1/18(2006.01)

(22) 申请日 2013.04.23

(71) 申请人 合肥恒星药物研究所

地址 230051 安徽省合肥市包河工业区纬五
路 15 号

(72) 发明人 许璇 徐奎 刘经星 吴仁荣
鞠芳

(74) 专利代理机构 安徽合肥华信知识产权代理
有限公司 34112

代理人 余成俊

(51) Int. Cl.

C07C 229/18(2006.01)

C07C 227/18(2006.01)

A61K 31/223(2006.01)

A61P 9/10(2006.01)

A61P 1/16(2006.01)

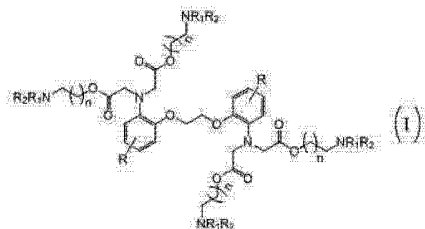
权利要求书2页 说明书8页

(54) 发明名称

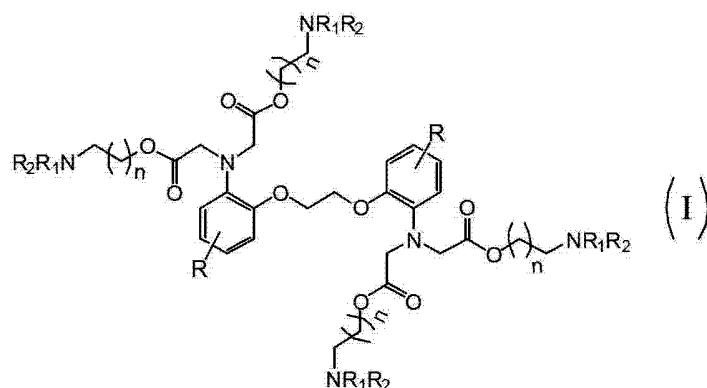
一种新的 BAPTA 衍生物、其制备方法及其医
药用途

(57) 摘要

本发明涉及药物化学领域,具体涉及一种
改良的 BAPTA 衍生物通式(I)、其制备方法、
并包含其药物制剂及其医药用途。其中 R、
R₁、R₂及 n 的定义同说明书。本发明还提供了
该衍生物化合物的制备方法和药物应用。



1. 通式(I)的化合物或其药学上可接受的盐：



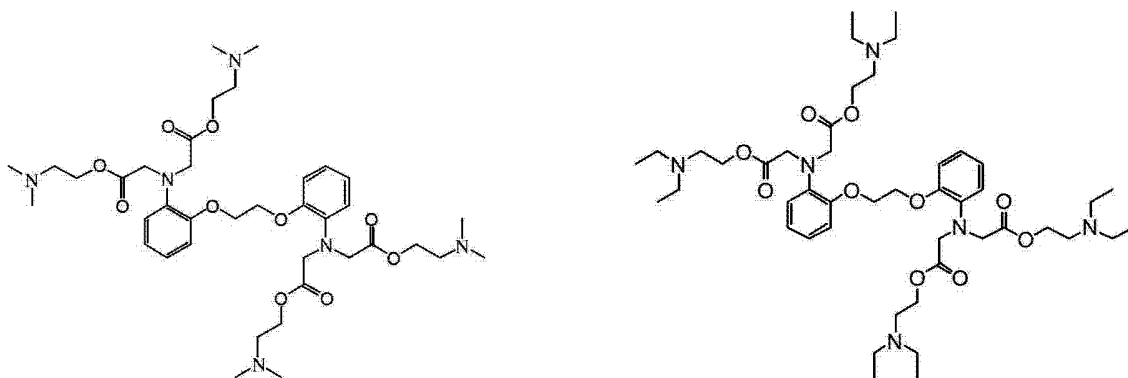
其中 n 为 1 ~ 7 的整数

R 表示单取代、双取代或三取代,取代基选自氢原子、卤素、氨基、羟基、硝基、氰基、三氟甲基、三氟甲氧基、 $C_1 \sim C_4$ 的烷基、 $C_1 \sim C_4$ 的烷氧基、 $C_1 \sim C_4$ 的酰胺、 $C_1 \sim C_4$ 的烷氧羰基。

R_1 、 R_2 为 $C_1 \sim C_4$ 的直链烷基或支链烷基, R_1 、 R_2 相同或不同。

2. 权利要求书 1 的化合物或其药学上可接受的盐,其中 R 表示单取代,取代基选自氢原子或溴原子, n 为 1 ~ 2 的整数, R_1 、 R_2 分别为相同的甲基或乙基。

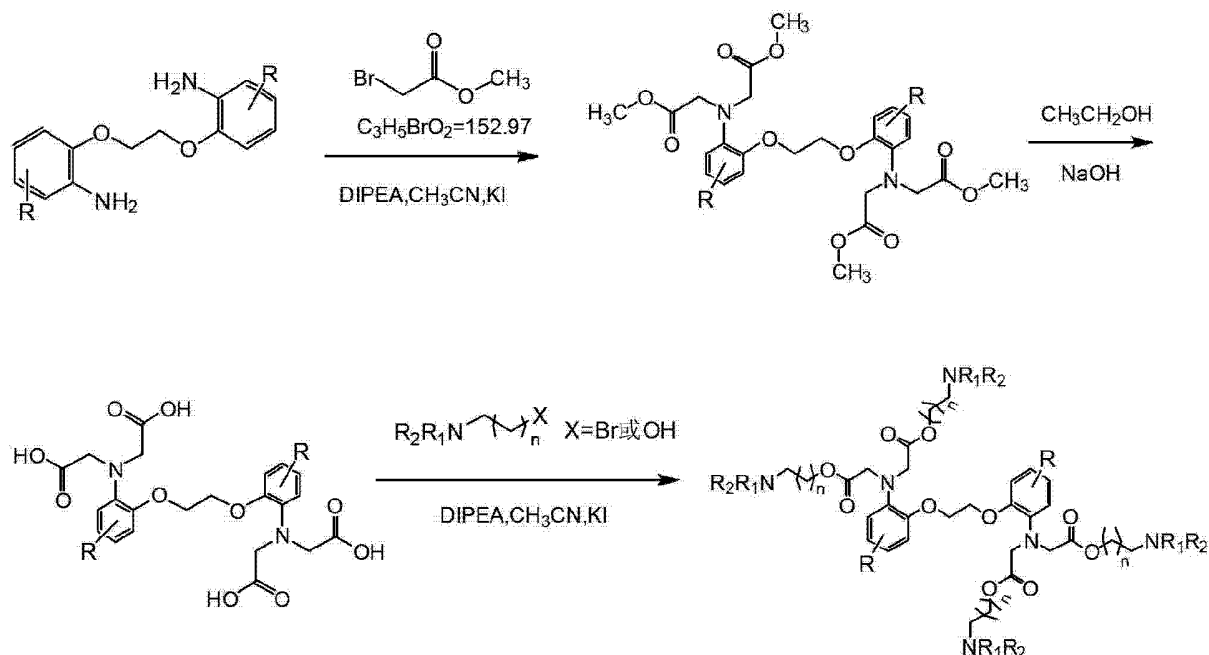
3. 根据权利要求书 1 或 2 所述的化合物或其药学上可接受的盐,其特征是以下化合物：



4. 权利要求书 1 或 2 或 3 所述的化合物或其药学上可接受的盐,其特征是所述的盐选自盐酸盐、甲磺酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、氢溴酸盐、甲酸盐、乙酸盐、草酸盐、苯磺酸盐、富马酸盐、马来酸盐、酒石酸盐等。

5. 权利要求书 4 所述的化合物或其药学上可接受的盐,其特征是所述的盐为草酸盐。

6. 通式(I)所述的化合物或其药学上可接受的盐制备方法,其特征在于,包含步骤：



a) 取代的 2, 2'-二氨基乙二醇二苯醚与溴乙酸甲酯在乙腈中, 用碘化钾作催化剂, 二异丙基乙胺作缚酸剂, 处理得到取代的 BAPTA 甲酯

b) 取代的 BAPTA 甲酯溶于乙醇中, 在氢氧化钠作用下, 水解处理得到取代的 BAPTA

c) 取代的 BAPTA 用取代的氨基醇或取代的氨基溴化物处理得目标化合物的碱

d) 目标化合物的碱在有机溶剂中用有机酸处理得到目标化合物的盐。

7. 一种药物组合物, 其特征在于, 含有治疗或预防有效剂量如权利要求 1 或 2 或 3 或 4 所述的化合物作为活性成分以及药学上可接受的载体。

8. 如权利要求 5 所述的药物组合物, 其特征是为注射剂型, 包括注射液、注射用无菌粉或注射用冻干粉。

9. 如权利要求 1 或 2 或 3 或 4 或 5 所述的药物组合物用途, 其特征是在以下方面的应用:

在制备药物中的应用, 用于治疗临床上急性大面积死亡所导致的严重疾病:

在制备治疗脑梗塞导致急性细胞大面积死亡药物中的应用;

在制备治疗心肌梗塞导致急性细胞大面积死亡药物中的应用;

在制备治疗肝坏死导致急性细胞大面积死亡药物中的应用;

在制备治疗肾缺血性坏死导致急性细胞大面积死亡药物中的应用;

在制备治疗坏死性胰腺炎导致急性细胞大面积死亡药物中的应用。

一种新的 BAPTA 衍生物、其制备方法及其医药用途

技术领域

[0001] 本发明涉及药物化学领域,具体涉及一种改良的 BAPTA 衍生物、其制备方法、并包含其药物制剂及其医药用途。

背景技术

[0002] 钙广泛分布于人体的细胞与体液中,对细胞的代谢和功能有重要的调节作用。钙不仅参与神经传导、递质释放、细胞分泌等短期过程,也参与细胞分化、增殖的长期反应,它广泛地影响着诸如神经元生长、轴突延长和突触强度等生理过程。钙是人体重要的元素成分之一,在体内以结合状态和离子状态 Ca^{2+} 存在。但只有 Ca^{2+} 才具有生理活性。体内 Ca^{2+} 分为细胞内 Ca^{2+} 和细胞外 Ca^{2+} 两种,其中,胞质钙作为第二信使对细胞各种生理活动具有广泛调控作用。

[0003] 几乎所有的细胞类型都以某种方式依赖胞质 Ca^{2+} 信号的产生,以调节细胞功能或引发具体反应。细胞溶质 Ca^{2+} 信号控制广泛的细胞功能,从短期反应(例如收缩和分泌)至细胞生长和增殖的长期调节。通常这些信号涉及 Ca^{2+} 从胞内钙池(例如内质网(ER))释放和 Ca^{2+} 穿过质膜流入的一些组合。在一个实例中,细胞活化从激动剂(与表面膜受体结合)开始,所述激动剂通过 G 蛋白机制与磷脂酶 C(PLC) 偶合。PLC 活化导致产生 1, 4, 5 一三磷酸肌醇(IP_3),其进而使 IP_3 受体活化,引起 Ca^{2+} 从 ER 中释放。然后 ER Ca^{2+} 的下降发信号,以活化质膜钙池操纵的钙(SOC)通道。

[0004] 一些有害因素可引起钙平衡系统功能失调,钙分布紊乱,导致细胞内钙浓度异常性升高,即钙超载。钙超载可引起线粒体内氧化磷酸化过程障碍,线粒体膜电位降低,组织 ATP 含量下降,以及胞浆内磷脂酶、蛋白酶等激活,可导致并促进细胞的不可逆性损伤。

[0005] 细胞内钙超载时, Ca^{2+} 激活 Ca^{2+} 依赖的磷脂酶,能引起膜磷脂的分解,在分解过程中产生游离脂肪酸、前列腺素、白三烯、溶血磷脂等,均对细胞产生毒害作用。 Ca^{2+} 还可直接激活钙蛋白酶,促使作为细胞骨架成分的胞衬蛋白裂解,在 Ca^{2+} 的刺激下,核支架蛋白酶使分离核中的纤层蛋白降解,从而直接损伤细胞。钙蛋白酶是各种细胞毒物质造成细胞死亡的重要中介,用线粒体抑制剂抗霉素 A 作用于近端肾小管细胞时,钙蛋白酶活性增加并引起外钙内流,接着钙蛋白酶从胞质中转移到细胞上,从而引起 Cl^- 内流和细胞溶解死亡。钙蛋白酶的激活在细胞损伤过程中发挥双重作用。起始的钙蛋白酶激活导致胞外 Ca^{2+} 经硝苯地平敏感的钙通道内流,接着转移到胞膜上,引起 Cl^- 内流和细胞死亡。

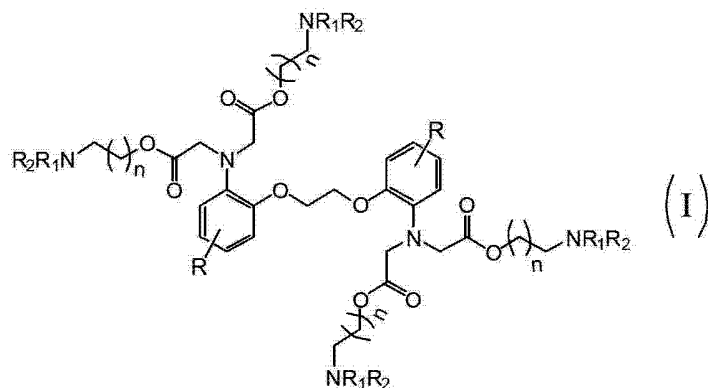
[0006] BAPTA, 1, 2- 双 2- 氨基苯氧基 - 乙烷,是一种钙选择性螯合剂。它基本的螯合单位和 EDTA 类似,只是两个脂肪氮被芳香氮所替代。因此, BAPTA 在生理 pH 下不会被质子化。BAPTA 的 $\text{pK}_{\text{a}3}$ 为 5. 47, $\text{pK}_{\text{a}4}$ 为 6. 36。这个特点显示了去质子化的步骤并不包含在 Ca 的螯合步骤中。由于不受质子的干扰,它的螯合率比 EGTA 要高很多。BAPTA-AM 是 BAPTA 的乙酰甲酯衍生物,通过 AM 法,能被轻易负载到细胞中。BAPTA-AM 对于细胞内钙离子的监控是非常有用的。但是, BAPTA-AM 完全不溶于水,影响了其作为临床应用的药物制剂的研发和生产。

发明内容

[0007] 本发明的目的在于弥补现有技术中存在的不足之处,提供一种改良的 BAPTA 衍生物、其制备方法及其医药用途。

[0008] 本发明化合物的通式(I)如下:

[0009]



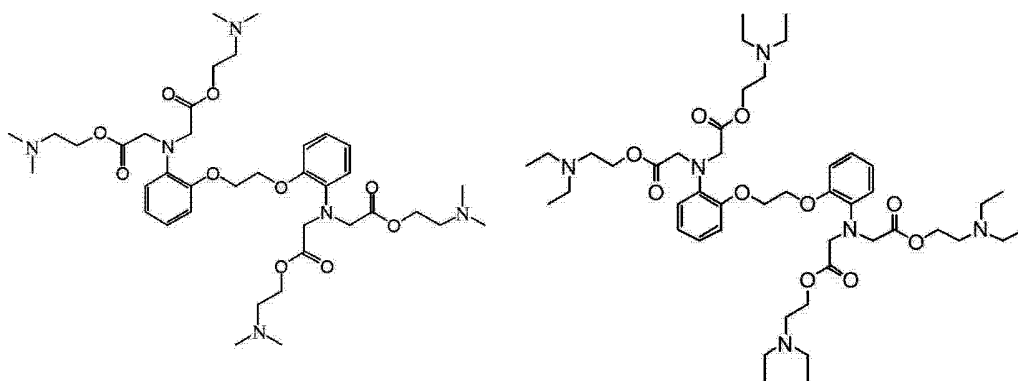
[0010] 其中 n 为 1 ~ 7 的整数

[0011] R 表示单取代、双取代或三取代,取代基选自氢原子、卤素、氨基、羟基、硝基、氰基、三氟甲基、三氟甲氧基、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_4$ 的烷基、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_4$ 的烷氧基、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_4$ 的酰胺、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_4$ 的烷氧羰基。

[0012] R_1 、 R_2 为 $\text{C}_1 \sim \text{C}_4$ 的直链烷基或支链烷基, R_1 、 R_2 相同或不同。

[0013] 本发明优选以下化合物:

[0014]

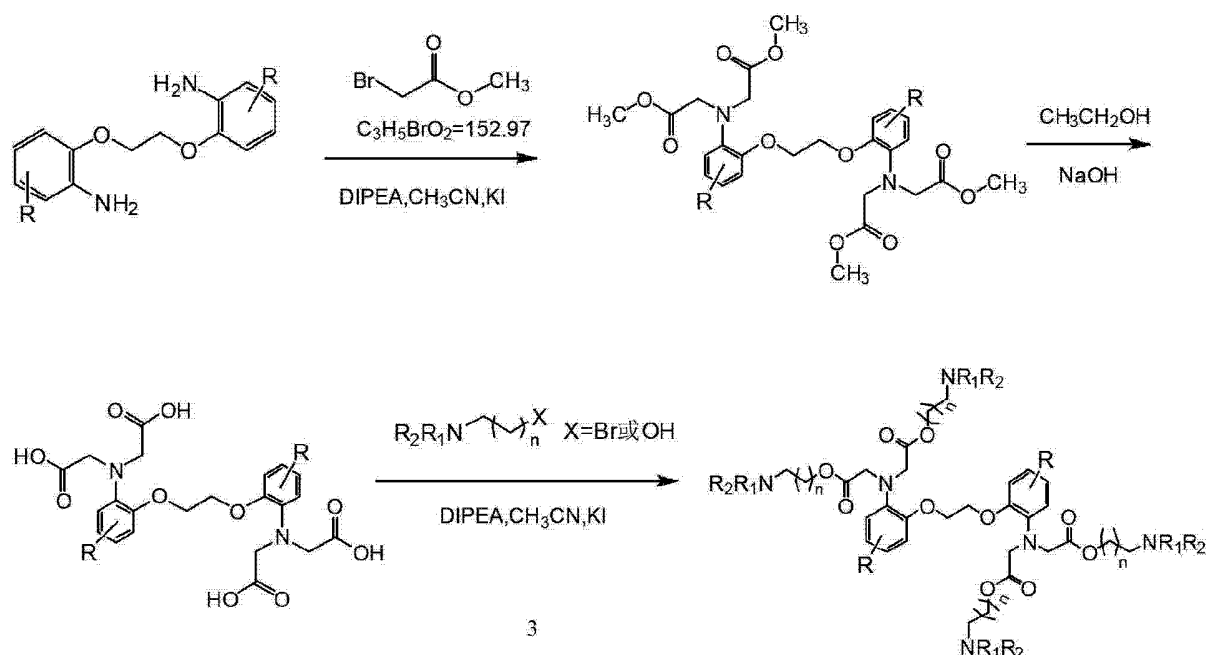


[0015] 本发明也包括化合物通式(I) 药学上可接受的盐,所述的盐选自盐酸盐、甲磺酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、氢溴酸盐、甲酸盐、乙酸盐、草酸盐、苯磺酸盐、富马酸盐、马来酸盐、酒石酸盐等,优选草酸盐。

[0016] 本发明还公开了通式(I) 的制备方法。

[0017] 化合物通式(I) 的制备方法,包含:

[0018]



[0019] a) 取代的 2,2'-二氨基乙二醇二苯醚与溴乙酸甲酯在乙腈中,用碘化钾作催化剂,二异丙基乙胺作缚酸剂,处理得到取代的 BAPTA 甲酯

[0020] b) 取代的 BAPTA 甲酯溶于乙醇中,在氢氧化钠作用下,水解处理得到取代的 BAPTA

[0021] c) 取代的 BAPTA 用取代的氨基醇或取代的氨基溴化物处理得目标化合物的碱

[0022] d) 目标化合物的碱在有机溶剂中用有机酸处理得到目标化合物的盐

[0023] 本发明还公开了一种药物组合物,其中含有化合物通式(I) 治疗或预防有效剂量的化合物作为活性成分以及药学上可接受的载体。本发明所述的化合物可以添加药学上可接受的载体制成常见的药物制剂,如注射剂型,包括注射液、注射用无菌粉或注射用冻干粉。

[0024] 本发明提供了所发明的药物组合物用途,在制备中的应用,用以治疗临床上急性大面积细胞死亡所导致的严重疾病。

具体实施方式

[0025] 下面的实施例可以对本发明进行进一步的描述,然而,这些实施例不应作为对本发明范围的限制。

[0026] 实施例 1 :BAPTA 甲酯的制备

[0027] 於 10L 干燥的反应釜中,加入 2,2'-二氨基乙二醇二苯醚 370g (1.5mol)、无水乙腈 3500ml,室温搅拌 10min,於 N_2 保护下,加入二异丙基乙胺 1440ml (8.32mol) 及无水碘化钠 70g (0.446mol),缓慢升温,当反应液温度达到 $60^{\circ}\text{C} \sim 65^{\circ}\text{C}$,缓慢滴入溴乙酸甲酯 768ml (8.32mol),滴入完毕后,密封反应釜,升高温度达到 $80^{\circ}\text{C} \sim 83^{\circ}\text{C}$,反应搅拌 27h, TLC 控制反应终点,展开剂为 DMF-乙酸乙酯 =6:20,反应结束,冷却至室温,加入甲苯 4000ml,搅拌 10min,分离出甲苯层,固体化合物继续用甲苯 1000ml \times 4 搅拌与分离,合并甲苯层,甲苯层用 1000ml \times 4 去离子水洗涤,弃去水层,有机层用 1kg 无水硫酸钠干燥 2h,过滤除去干燥剂,滤液真空 $60^{\circ}\text{C} \sim 65^{\circ}\text{C}$ 浓缩,浅红色固体用无水乙醇重结晶 3 次,得白色结晶性粉末固体 713g (1.378mol),收率 91.88%,熔点 : $94 \sim 95^{\circ}\text{C}$

[0028]

元 素 分 析	计算值	C	58.64	H	6.06	N	5.26
$C_{26}H_{32}N_2O_{10}$ (%)	实测值:	C	58.01	H	6.32	N	5.20

[0029] 1H -NMR (500MHz, CD_3OD/TMS , ppm):

[0030] δ 3.65 (s, 12H); δ 4.32 (s, 8H); δ 4.51 ~ 4.57 (t, 4H, $J=7.6Hz$); δ 6.79 ~ 6.82 (t, 2H, $J=6.5Hz$); δ 7.02 ~ 7.13 (d, 2H, $J=3.9Hz$); δ 7.25 ~ 7.31 (d, 2H, $J=8.6Hz$); δ 7.38 ~ 7.43 (d, 2H, $J=4.8Hz$)

[0031] MS(ESI): 533[M+H, 100%]

[0032] HPLC 分析: 92.7%

[0033] 色谱柱为十八烷基硅烷键合硅胶柱 (Shimpack, CLC-ODS, 150mm \times 4.6mm, 5 μ m); 流动相为 0.5% 乙酸和 75% 甲醇的水溶液; 检测波长为 254nm; 流量为 1.0ml/min⁻¹; 进样体积为 20 μ l。理论塔板数按 BAPTA 甲酯峰计算不低于 2000。

[0034] 实施例 2: BAPTA 的制备

[0035] 於 10L 清洁反应釜中, 加 BAPTA 甲酯 532g (1.0mol) 及乙醇 5500ml, 缓慢加热升温至固体全部溶解, 缓慢滴入 15% 氢氧化钠溶液 2667ml (5.0mol) [15% 氢氧化钠溶液配制方法: 称取 400g 氢氧化钠, 溶于 2600ml 蒸馏水中, 搅拌澄清, 冷却即得], 滴入完毕后, 回流混合物 3h, TLC 控制反应终点, 展开剂为 DMF- 乙酸乙酯 =1:2, 反应结束, 稍冷, 加入活性炭 15g, 搅拌回流 20min, 过滤除去不溶物, 减压浓缩至剩下十分之一溶剂, 冷却至室温, 加入蒸馏水 1L, 降温至 5 $^{\circ}C$ ~ 10 $^{\circ}C$, 用 0.1N 盐酸调节 pH 至 2 ~ 2.5, 保持搅拌 20min, 过滤, 固体用蒸馏水洗至蒸馏水接近中性, 取出固体, 用 5L 蒸馏水打浆, 过滤, 在 50 $^{\circ}C$ 下减压真空干燥 6h, 得 BAPTA 435g, 收率 81.8%, 熔点: 151 $^{\circ}C$ ~ 155 $^{\circ}C$, 熔融时同时分解。

[0036]

元 素 分 析	计算值	C	55.46	H	5.08	N	5.88
$C_{22}H_{24}N_2O_{10}$ (%)	实测值:	C	55.61	H	4.97	N	5.80

[0037] 实施例 3: 1, 2- 双 (2- 氨基苯氧基) 乙烷 -N, N', N' - 四乙酸四 (二甲氨基乙醇酯) 的制备

[0038] 於 5000ml 干燥洁净的四口烧瓶中, 加入 BAPTA 95g (0.2mol)、无水乙腈 1100ml, 室温搅拌 10min, 於 N_2 保护下, 加入二异丙基乙胺 208ml (1.2mol) 及无水碘化钠 12g (0.08mol), 缓慢升温, 当反应液温度达到 60 $^{\circ}C$ ~ 65 $^{\circ}C$, 缓慢滴入二甲胺基乙基溴 216g (1.2mol) [二甲胺基乙基溴制备方法: 取市售二甲胺基乙基溴氢溴酸盐 500g, 溶于 1500ml 蒸馏水中, 用饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 至 9, 甲苯 3000ml 萃取, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩至干即得], 滴入完毕后, 密封反应釜, 升高温度达到 80 $^{\circ}C$ ~ 83 $^{\circ}C$, 反应搅拌 30h, TLC 控制反应终点, 展开剂为 DMF- 乙醇 - 二氯甲烷 =3:15:5, 反应结束, 冷却至室温, 加入二氯甲烷 2000ml, 搅拌 10min, 分离出二氯甲烷层, 固体化合物继续用二氯甲烷 500ml \times 3 搅拌与分离, 合并二氯甲烷层, 二氯甲烷层用 400ml \times 4 去离子水洗涤, 弃去水层, 有机层用 200g 无水硫酸钠干燥 4h, 过滤除去干燥剂, 滤液真空 40 $^{\circ}C$ ~ 45 $^{\circ}C$ 浓缩至干, 得浅红色粘性油状物

116g, 收率 76.3%, 直接用于下一步反应。

[0039] 实施例 4: 1, 2- 双 (2- 氨基苯氧基) 乙烷 -N, N', N' - 四乙酸四 (二甲氨基乙醇酯) 草酸盐的制备

[0040] 於 10L 清洁反应釜中, 加入 1, 2- 双 (2- 氨基苯氧基) 乙烷 -N, N', N' - 四乙酸四 (二甲氨基乙醇酯) 110g' 及丙酮 5500ml, 搅拌成混悬液, 搅拌下, 滴加草酸水合物 55g 溶于 70ml 的丙酮溶液, 加毕, 搅拌加热至沸腾后, 反应混合物再於搅拌下冷却至 0℃ ~ 5℃ 放置 5h, 过滤, 固体用 500ml 丙酮洗涤, 真空 40℃ ~ 45℃ 干燥 6h, 固体再用乙醇 / 乙酸乙酯重结晶, 得白色结晶性固体 1, 2- 双 (2- 氨基苯氧基) 乙烷 -N, N', N' - 四乙酸四 (二甲氨基乙醇酯) 草酸盐 113g, 收率 79.3%。

[0041]

元 素 分 析	计算值	C	49.28	H	6.11	N	7.50
C ₄₆ H ₆₈ N ₆ O ₂₆ (%)	实测值:	C	50.01	H	6.07	N	7.43

[0042] ¹H—NMR (500MHz, CD₃OD/TMS, ppm):

[0043] δ 2.93 (s, 24H, NCH₃); δ 3.31 ~ 3.39 (t, 8H, J=7.6Hz, NCH₂CH₂); δ 4.26 ~ 4.32 (t, 8H, J=8.8Hz, NCH₂CH₂); δ 4.37 (s, 8H, NCH₂); δ 4.55 ~ 4.61 (t, 4H, J=4.3Hz, OCH₂CH₂O); δ 6.86 ~ 6.91 (t, 2H, J=6.6Hz, 苯环); δ 7.26 ~ 7.32 (d, 2H, J=7.8Hz, 苯环); δ 7.40 ~ 7.46 (d, 2H, J=12.4Hz, 苯环); δ 7.53 ~ 7.59 (d, 2H, J=6.3Hz, 苯环)

[0044] MS(ESI): 761.5 [M+H, 100%]

[0045] HPLC 分析: 98.9%

[0046] 色谱柱为十八烷基硅烷键合硅胶柱 (Shimpack, CLC-ODS, 150mm×4.6mm, 5 μm); 流动相为 0.2% 乙酸和 75% 乙腈的水溶液; 检测波长为 267nm; 流量为 1.0ml/min⁻¹; 进样体积为 20 μl。理论塔板数按 1, 2- 双 (2- 氨基苯氧基) 乙烷 -N, N', N' - 四乙酸四 (二甲氨基乙醇酯) 草酸峰计算不低于 2000。

[0047] 实施例 5: 1, 2- 双 (2- 氨基苯氧基) 乙烷 -N, N', N' - 四乙酸四 (二乙氨基乙醇酯) 的制备

[0048] 於 5000ml 干燥洁净的四口烧瓶中, 加入 BAPTA95g (0.2mol)、无水乙腈 1100ml, 室温搅拌 10min, 於 N₂ 保护下, 加入二异丙基乙胺 208ml (1.2mol) 及无水碘化钠 12g (0.08mol), 缓慢升温, 当反应液温度达到 60℃ ~ 65℃, 缓慢滴入二乙胺基乙基溴 231g (1.2mol) [二乙胺基乙基溴制备方法: 取市售二乙胺基乙基溴氢溴酸盐 550g, 溶于 1500ml 蒸馏水中, 用饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 至 9, 甲苯 3000ml 萃取, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩至干即得], 滴入完毕后, 密封反应釜, 升高温度达到 80℃ ~ 83℃, 反应搅拌 30h, TLC 控制反应终点, 展开剂为 DMF-乙醇-二氯甲烷=3:15:5, 反应结束, 冷却至室温, 加入二氯甲烷 2000ml, 搅拌 10min, 分离出二氯甲烷层, 固体化合物继续用二氯甲烷 500ml×3 搅拌与分离, 合并二氯甲烷层, 二氯甲烷层用 400ml×4 去离子水洗涤, 弃去水层, 有机层用 200g 无水硫酸钠干燥 4h, 过滤除去干燥剂, 滤液真空 40℃ ~ 45℃ 浓缩至干, 得浅红色粘性油状物 116g, 收率 76.3%, 直接用于下一步反应。

[0049] 实施例 6: 1, 2- 双 (2- 氨基苯氧基) 乙烷 -N, N', N' - 四乙酸四 (二乙氨基乙醇酯) 草酸盐的制备

[0050] 於 10L 清洁反应釜中,加入 1,2-双(2-氨基苯氧基)乙烷-N,N,N',N'-四乙酸四(二乙氨基乙醇酯)110g'及丙酮 5500ml,搅拌成混悬液,搅拌下,滴加草酸水合物 60g 溶于 80ml 的丙酮溶液,加毕,搅拌加热至沸腾后,反应混合物再於搅拌下冷却至 0℃~5℃放置 5h,过滤,固体用 500ml 丙酮洗涤,真空 40℃~45℃干燥 6h,固体再用乙醇/乙酸乙酯重结晶,得白色结晶性固体 1,2-双(2-氨基苯氧基)乙烷-N,N,N',N'-四乙酸四(二甲氨基乙醇酯)草酸盐 101g,收率 77.4%。

[0051]

元 素 分 析	计算值	C	52.59	H	6.87	N	6.81
C ₅₄ H ₈₄ N ₆ O ₂₆ (%)	实测值:	C	53.12	H	6.51	N	7.04

[0052] ¹H—NMR (500MHz, CD₃OD/TMS, ppm) :

[0053] δ 1.12 ~ 1.18 (t, 24H, CH₃) ; δ 2.91 ~ 2.99 (m, 16H, NCH₂CH₃) ; δ 3.33 ~ 3.42 (t, 8H, J=6.8Hz, NCH₂CH₂) ; δ 4.23 ~ 4.27 (t, 8H, J=6.8Hz, NCH₂CH₂) ; δ 4.42 (s, 8H, NCH₂) ; δ 4.60 ~ 4.64 (t, 4H, J=8.6Hz, OCH₂CH₂O) ; δ 6.94 ~ 6.99 (t, 2H, J=4.8Hz, 苯环) ; δ 7.29 ~ 7.37 (d, 2H, J=7.8Hz, 苯环) ; δ 7.47 ~ 7.53 (d, 2H, J=8.8Hz, 苯环) ; δ 7.61 ~ 7.68 (d, 2H, J=6.3Hz, 苯环)

[0054] MS(ESI) : 873.6 [M+H, 100%]

[0055] HPLC 分析 : 97.1%

[0056] 色谱柱为十八烷基硅烷键合硅胶柱 (Shimpack, CLC-ODS, 150mm×4.6mm, 5 μ m) ; 流动相为 0.2% 乙酸和 75% 乙腈的水溶液 ; 检测波长为 267nm ; 流量为 1.0ml/min⁻¹ ; 进样体积为 20 μ l。理论塔板数按 1,2-双(2-氨基苯氧基)乙烷-N,N,N',N'-四乙酸四(二甲氨基乙醇酯)草酸峰计算不低于 2000。

[0057] 实施例 7 : 1,2-双(2-氨基苯氧基)乙烷-N,N,N',N'-四乙酸四(二乙氨基乙醇酯)草酸盐冻干粉针的制备

[0058] 处方 :

	1,2-双(2-氨基苯氧基)乙烷-N,N,N',N'-四乙酸四(二乙氨基乙醇酯) 草酸盐	0.5g
	甘氨酸	30g
[0059]	苯磺酸水溶液	适量
	注射用水	5000ml
		1000支

[0060] 制备工艺 :

[0061] 取处方总量 80% 左右的注射用水,水温控制在 25℃ ±5℃,加入精密称取甘氨酸 30g,及 1,2-双(2-氨基苯氧基)乙烷-N,N,N',N'-四乙酸四(二乙氨基乙醇酯)草酸盐 0.5g,充分搅拌至全部溶解,测定 pH 值,滴加苯磺酸水溶液,控制 pH 值为 4.5 左右加入注射用水至全量,加入 0.1% 针用活性炭,25℃ ±5℃搅拌 30min,用 0.22 μ m 微孔滤膜除菌过滤,溶液分装于 7ml 规格的西林瓶中,每瓶装量为 5ml。

[0062] 将制备好的已灌装苯磺酸顺阿曲库铵的西林瓶放入冻干箱内,然后将冻干机内温度在 2h 内降低到 -45°C 以下,使其迅速冻结。抽真空,在 30min 内使箱内大气压达到 2.66pa。按板温 -45°C 升到 30°C 的开始程序升温干燥。干燥完后加塞、轧盖得到苯磺酸顺阿曲库铵冻干粉针。

[0063] 实施例 8:1,2-双(2-氨基苯氧基)乙烷-N,N,N',N'-四乙酸四(二乙氨基乙醇酯)草酸盐注射液的制备

[0064] 处方:

	1,2-双(2-氨基苯氧基)乙烷-N,N,N',N'-四乙酸四(二乙氨基乙醇酯) 草酸盐	0.5g
[0065]	苯磺酸水溶液	适量
	注射用水	4000ml
		1000支

[0066] 制备工艺:

[0067] 取处方总量 80% 左右的注射用水,水温控制在 $25^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$,加入精密称取的 1,2-双(2-氨基苯氧基)乙烷-N,N,N',N'-四乙酸四(二乙氨基乙醇酯)草酸盐 0.5g,充分搅拌至全部溶解,测定 pH 值,滴加苯磺酸水溶液,控制 pH 值为 4.5 左右加入注射用水至全量,加入 0.1% 针用活性炭, $25^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 搅拌 30min,用 $0.22\mu\text{m}$ 微孔滤膜除菌过滤,溶液分装于 5ml 规格的西林瓶或安瓿瓶中,每瓶装量为 5ml 即得。

[0068] 实施例 8 制剂进行下列实验:

[0069] 1、对脑梗塞保护作用动物试验:在小鼠断头后张口喘气及氮气缺氧模型上,本发明制剂 $5,2.5,1.0\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 静脉注射可明显延长小鼠断头后张口喘气时间,并呈一定的量效关系; $5,2.5,1.0\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 本发明制剂可延长小鼠氮气缺氧死亡时间,并可提高小鼠双侧颈总动脉结扎 8h 内存活率。在大鼠大脑动脉结扎模型(MCAO)上,本发明制剂(iv) $5,2.5,1.0\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 治疗给药能显著减轻脑组织梗塞重量百分比,且呈量效关系,并能明显抑制 MCAO 大鼠异常神经症状的产生; $5,2.5,1.0\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 本发明制剂能显著抑制 MCAO 大鼠脑组织中的 LDH 活性的降低,明显降低缺血脑组织中 MDA 的含量,本发明制剂 $5,2.5,1.0\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 还能明显抑制 MCAO 大鼠脑组织中 NO 含量的降低。预防给药也具有明显的作用。在不完全性脑缺血模型上,本发明制剂 $5,2.5,1.0\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 静脉注射可抑制双侧 CCA 结扎所致脑水肿的发生,并降低脑指数, $5,2.5,1.0\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 本发明制剂还能明显降低脑组织血管通透性。此外本发明制剂可明显降低大鼠颈总动脉-静脉旁路模型中血栓的湿重。

[0070] 2、对心肌缺血损伤保护作用动物试验:采用异丙肾上腺素所致大鼠急性心肌缺血损伤模型,研究本发明制剂对心肌缺血损伤的保护作用。结果表明,本发明制剂能明显抑制异丙肾上腺引起的血清肌酸激酶活性的升高。

[0071] 3、对肾功能衰竭保护作用动物试验:采用甘油导致的大鼠急性肾功能衰竭模型对药理的作用进行研究。结果表明,本发明制剂能明显抑制甘油引起的尿素氮水平的升高。

[0072] 4、对肝损伤的保护作用也进行了动物试验。采用四氯化碳导致的大鼠肝损伤模型对本发明制剂的药理作用进行研究。结果表明,本发明制剂能明显抑制四氯化氮导致的大

鼠肝损伤,减轻肝细胞坏死程度和血清学指标(降低血清胆红素和谷丙转氨酶等)。

[0073] 5、对胰腺炎的保护作用也进行了动物试验。采用大鼠急性坏死性胰腺炎(ANP)模型,对本发明制剂的药理作用进行研究。结果表明,本发明制剂能明显降低大鼠血清淀粉酶水平,并可使胰腺组织病理学改变明显减轻。