

计算机在预测药物稳定性中的应用

魏树礼 蒲新余

(北京医科大学药学院)

摘要 本文采用非恒温动力学方法对头孢唑啉的稳定性进行了研究, 温度随时间连续等步增加, 用计算机求解动力学方程, 计算出各步温度的速度常数与相应浓度, 根据残差平方和最小原则拟合出反应的活化能, 实验结果与留样观察基本一致。

关键词 非恒温动力学; 计算机; 速度常数; 活化能

药物稳定性的研究, 对保证药品质量有重要意义, 而稳定性的预测, 则是稳定性研究的一个主要方面。这类降解动力学, 通常多用恒温法进行研究。鉴于恒温法存在某些缺点, 近十几年来发展了非恒温法⁽¹⁾。由于温度与时间的函数关系不同, 有多种模式, 其中线性变温法我们曾做过报道⁽²⁾。本文实验方法亦采用非恒温法, 但药物降解反应的活化能, 是用电子计算机拟合求出, 同时算出相应的动力学参数, 从而达到预测药物稳定性的目的, 有关这方面的工作, 国内尚未见报道。

原 理⁽³⁾

对于线性程序升温过程, 其降解曲线 $f(c)$ 可看作是由一系列直线所构成, 即由一系列不同的恒温过程组成, 各直线的斜率(或速度常数 k_i) 代表给定时间(或温度)的瞬时降解速度。此方法假设这些速度常数的算术平均值等于总的降解比 $\frac{f(b)-f(a)}{b-a}$, 各步之间由于升温所要求的时间而带来的误差忽略不计。

$$\frac{f(b)-f(a)}{b-a} = \frac{k_1+k_2+\dots+k_i+\dots+k_n}{n}$$

对于一级反应, 则可写成

$$\ln c - \ln c_0 = \frac{t}{n} (k_1 + k_2 + \dots + k_i + \dots + k_n) \quad (1)$$

根据 Arrhenius 公式, $k_i = A e^{-E/(RT_i)}$ (2)

对于 k_{i+1} 则 $k_{i+1} = A e^{-E/(RT_{i+1})}$ (3)

(3) ÷ (2) 得 $k_{i+1} = k_i e^{E/R[(T_{i+1}-T_i)/(T_{i+1}T_i)]}$ (4)

因 $T_{i+1} - T_i = \Delta T$ 。依此类推, 各个速度常数可用 k_1 表示, 如令 $k_i = k_1$ 则

$$\ln c - \ln c_0 = k_1 \frac{t}{n} \left\{ 1 + e^{E/R[\Delta T/(T_1 T_2)]} + e^{E/R[\Delta T/(T_1 T_2) + \Delta T/(T_2 T_3)]} + \dots + e^{E/R[\Delta T/(T_1 T_2) + \dots + \Delta T/(T_{n-1} T_n)]} \right\} \quad (5)$$

$$\text{或 } \ln c - \ln c_0 = k_1 \frac{t}{n} \left\{ 1 + \sum_{i=1}^{n-1} \exp \left[E/R \Delta T \sum_{i=1}^m 1/(T_i T_{i+1}) \right] \right\} \quad (6)$$

一旦从实验上确定了 $\ln c - \ln c_0$ 和 t/n , 则对于任意给定的活化能, 就能算出 k_1 , 同样可推

出方程(6)类似的方程,于是就可解出 k_2 到 k_n 各值。若 $n=100$,对于任意给定的活化能,理论上就要算出 100 个速度常数和相应的浓度。若选定 20 个活化能的值(如从 15,000~35,000 cal/mol,每次改变 1000 cal/mol),则要计算出 2,000 个速度常数与浓度值,最后将给定的各个活化能计算出的理论浓度与相同时间测定的实验浓度做残差平方和,根据残差平方和最小原则,就能确定此药物的反应活化能,要完成这些计算,用手算是不可能的,只能借助于电子计算机来实现。为此,按方程(6)自编了计算机程序,完成了全部计算结果。读者如需要此类程序,可与作者联系。

实 验 方 法

本实验采用临床上常用的而又不太稳定的头孢唑啉钠盐为模型药物。

药品与仪器 头孢唑啉钠盐(注射用,藤泽药品工业株式会社);盐酸羟胺(AR)。BJDSWY-3 型程序升温仪;UV-260 紫外分光光度计;Apple-II 计算机。

分析方法 头孢唑啉的含量测定,采用 Holl 所报道的紫外羟胺法,该方法与微生物检测法是一致的⁽⁴⁾。

非恒温加速实验法 先校准并调节好程序升温仪。然后配制样品溶液,精密称取头孢唑啉钠约 1.0 g,氯化钠 14.6 g(调节离子强度相当于 0.5),用 pH 4.52 的醋酸缓冲溶液溶解并稀释至 500 ml,分装于 5 ml 安瓶中,放入程序仪控制的水浴中进行加速实验,待温度平衡后,记录开始的温度与时间。按规定时间取样,冷却,测定含量。同批号样品在 27°C(因此时室温为 27°C)恒温水浴中进行留样观察,定期测定含量。

实验条件:开始温度为 30.0°C,每 10 min(0.166 h)升温一次即 $\Delta t=0.166$ h,每次升温 0.35°C,即 $\Delta T=0.35^\circ\text{C}$,一直升至 70.0°C,总时间为 19 h,故 $n=114$ 。

一. 非恒温加速实验结果

用非恒温加速实验测定有关数据见表 1。

Tab 1. Nonisothermal accelerated experimental data

Time(h)	Percentage of label claim (C%)
0	100.00
9	87.58
10	85.59
12	83.60
13	82.11
15	73.67
16	63.21
17	61.24
19	38.88

根据文献报道,头孢唑啉水溶液降解为一级过程⁽⁵⁾,故式(6)适用于本实验结果处理,为此,将有关数据输入计算机,活化能的选择,主要考虑多数药物降解活化能在 10000~35000 cal/mol 之间,故从 10000 cal/mol 开始,每次增加 1000 cal/mol(个别为 500 cal/mol),对于每个活化能,可算出 114 个(因 $n=114$)速度常数和相应的理论浓度。由于数据较多,为简明起见,只择其中活化能为 22000~28000 cal/mol 之间 8 组数据,并将与实验时间相对应通过计算机所得的速度常数及理论浓度选出,列于表 2 和表 3。

Tab 2. Calculated rate constant (based on given activation energy)

Time (h)	kh ⁻¹							
	E (cal/mol)							
	23000	24000	24500	25000	25500	26000	27000	28000
9	0.0225	0.0212	0.0207	0.0200	0.0195	0.0188	0.0177	0.0166
10	0.0284	0.0271	0.0265	0.0258	0.0252	0.0246	0.0233	0.0221
12	0.0449	0.0436	0.0430	0.0424	0.0418	0.0411	0.0398	0.0386
13	0.0561	0.0551	0.0546	0.0541	0.0535	0.0529	0.0518	0.0506
15	0.0870	0.0872	0.0871	0.0870	0.0869	0.0868	0.0866	0.0863
16	0.1077	0.1088	0.1093	0.1098	0.1102	0.1106	0.0113	0.1119
17	0.1330	0.1356	0.1368	0.1381	0.1392	0.1404	0.1426	0.1447
19	0.2094	0.2169	0.2209	0.2247	0.2286	0.2324	0.2400	0.2477

将表 1 中的实测浓度(c_i)与表 3 中理论计算浓度(ĉ_i)做残差平方和 $\sum_{i=1}^n (\hat{c}_i - c_i)^2$, 计算结果也一并列入表 3 中。

Tab 3. Calculated concentration values (based on given activation energy)

Time (h)	C %							
	E (cal/mol)							
	23000	24000	24500	25000	25500	26000	27000	28000
9	91.95	92.60	92.91	93.21	93.49	93.77	94.29	94.77
10	89.61	90.36	90.72	91.07	91.40	91.73	92.35	92.92
12	83.28	84.20	84.64	85.08	85.50	85.92	86.72	87.48
13	79.14	80.10	80.57	81.03	81.48	81.92	82.78	83.61
15	68.59	69.50	69.94	70.39	70.82	71.26	72.11	72.95
16	62.17	62.97	63.33	63.72	64.10	64.48	65.24	65.99
17	55.05	55.63	55.92	56.22	56.51	56.80	57.37	57.95
19	39.40	39.42	39.43	39.44	39.45	39.46	39.48	39.50
Sum*	133.9 75	119.4 84	115.7 51	113.5 07	113.1 83	114.7 45	122.5 56	135.9 45

*The sum of the residual squares

由表 3 可见, 当给定活化能为 25500 cal/mol 时, 残差平方和为 113.183, 根据残差平方和最小原则, 此药物降解反应拟合所得的活化能确定为 25500 cal/mol, 以此活化能值及有关数据代入(6)式, 就可算出开始温度 30.0°C 时的速度常数 $k = 0.0017 \text{ h}^{-1}$ 。根据 Arrhenius 公式 $\log \frac{k_2}{k_1} = \frac{E(T_2 - T_1)}{2.303 RT_1 T_2}$ 得 27°C 时 $k_{27} = 0.00111 \text{ h}^{-1}$, 故 $t_{0.9} = \frac{0.1054}{0.00111} = 94.95 \text{ h}$ 。若按 25°C 计算得 $k_{25} = 8.362 \times 10^{-4} \text{ h}^{-1}$, 则 $t_{0.9} = 126.04 \text{ h}$ 。

二. 样品于 27°C 留样观察结果

样品于 27°C 留样观察测定各时间数据见表 4。对表 4 中的数据进行回归处理, 得回归方程

$$\log c = -5.199 \times 10^{-4}t + 2.007$$

当 $c = 90$ 则 $t_{0.9} = 101.47 \text{ h}$

Tab 4. Observation values at 27°C

Time (h)	Percentage of label claim (C%)	Log C
0	100.00	2.0000
42.5	98.35	1.9927
99.0	91.22	1.9600
123.0	87.92	1.9440
147.0	84.09	1.9247

据文献报道,本品在葡萄糖或生理盐水溶液中于室温放置, $t_{0.9}=120\text{ h}$ (5天)⁽⁶⁾。

讨 论

本实验采用非恒温动力学方法研究了头孢唑啉的稳定性,按预定计划升温,用计算机求解动力学方程,计算出各步温度的速度常数与相应的浓度,根据残差平方和最小原则,确定此模型药物降解的活化能为 25500 cal/mol,按此法预测其水溶液在 27°C $t_{0.9}=94.95\text{ h}$,留样观察结果为 101.47 h,二者基本一致。室温(按 25°C 计算)预测结果与文献报道也大体一致(条件稍有不同)。若以 $\log \ln c_0/c$ 对 $\log(1+bt)$ 回归(表 1 后六点),得活化能 $E=25600\text{ cal/mol}$,相关系数为 0.9882, $t_{0.9}=119\text{ h}$,与本方法所得结果基本上也是一致的。

本方法的主要优点是将所有实测数据与理论计算结果进行统计处理,而且逐步改变活化能的值(每次改变 1000 cal/mol 或 500 cal/mol)进行拟合,活化能相差 500 cal/mol,残差平方和就能显示出差别(见表 3),因此结果更为可靠。本方法对于研究不稳定药物,具有普遍意义,特别在我国电子计算机应用日益广泛,故有进一步推广的价值。但为了得到满意的结果,实验数据必须准确,在实验前应进行预实验,选择适合的升温程序,以保证各取样间隔内药物的变化能够准确地测量,为实现本方法提供先决条件。

参 考 文 献

1. Rogers RE. An accelerated storage test with programmed temperature rise. *J Pharm Pharmacol* 1963; **15**: 101 T.
2. 魏树礼,等. 漫反射光谱法和线性变温法在抗坏血酸稳定性中的应用. *医药工业* 1983; (7):13.
3. Edel B, et al. Nonisothermal kinetics with programmed temperature steps. *J Pharm Sci* 1980; **69**:287.
4. Holl WW, et al. Automated spectrophotometric assay of cefazolin. *Ibid* 1975; **64**:1232.
5. Yamana J, et al. Comparative stability of cephalosporins in aqueous solution: Kinetics and mechanisms of degradation. *Ibid* 1976; **65**:1563.
6. Gupta VD, et al. Quantitation of carbenicillin disodium, cefazolin sodium, cephalothin sodium, nafcillin sodium, and ticarcillin disodium by high pressure liquid chromatography. *Ibid* 1980; **69**:1264.

APPLICATION OF COMPUTER IN PREDICTING STABILITY OF DRUGS

WEI Shu-Li and PU Xin-Yu

(College of Pharmacy, Beijing Medical University, Beijing)

ABSTRACT This paper reports studies on the stability of cefazolin with non-isothermal kinetics method. The temperature was increased in consecutive equal steps. The kinetic equation was solved by computer. For each step, the rate constant and corresponding concentration were calculated. According to the principle of minimum sum of the squares of the difference between the experimental and the theoretical values, the corresponding activation energy is regarded as the activation energy of the reaction. The results obtained by the nonisothermal method are similar to those obtained by the long term sample observation method.

Key words Nonisothermal kinetics; Computer; Rate constant; Activation energy