

变温加速法解析阿司匹林降解反应的动力学参数

王齐放¹, 赵喆², 范晓文¹, 卢方正¹, 李三鸣¹ (1 沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016 2 沈阳药科大学基础学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要 目的: 采用变温加速法测定药物降解反应的动力学参数。并与等温加速法相比较, 考察该方法的准确性。方法: 以阿司匹林为模型药物, 在设定的实验条件下, 从温度变化过程中药物的残存率与时间的关系入手, 根据化学动力学的原理, 采用非线性最小二乘法解析其降解反应的动力学参数 E_a 及 A 。结果: 阿司匹林的降解反应属准一级反应。在 pH 2、pH 4 和 pH 6 的条件下, 采用变温加速法求得阿司匹林的降解反应的 E_a 分别是: 16.13、18.19 和 23.87 kJ/mol (升温速率为 5 °C/h 和 10 °C/h 的平均值), 等温加速法测得的 E_a 分别为 16.12、18.01 和 23.93 kJ/mol。结论: 采用变温加速法与等温加速法测得的药物降解反应的动力学参数基本一致。与等温加速法相比, 变温加速法测定药物的稳定性具有迅速、可靠、简便、用样量少等特点。

关键词 变温加速法; 等温加速法; 动力学参数; 阿司匹林; 降解反应

中图分类号: R94 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2008)02-0106-04

Using non-isothermal method on kinetic parameters of degradation of aspirin

WANG Qi fang¹, ZHAO Zhe², FAN Xiaowen¹, LU Fang zheng¹, LI San ming¹ (1 School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, china 2 College of base, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, china)

ABSTRACT Objective To study the kinetic parameters of degradation of aspirin by the non-isothermal method (and Compare with isothermal method), To researched the accuracy and credibility of the method **Methods** Aspirin was used as a model drug. Under certainly experiment conditions, the stability of aspirin was studied by the non-isothermal method which was defined as a linear relationship between time and temperature. The value of activation energy (E_a) and frequency factors (A) were calculated by applying the non-linear least square method. **Results** The degradation of aspirin was attributed to pseudo first order reaction. The E_a values calculated by the non-isothermal method were 16.13 (pH 2), 18.19 (pH 4) and 23.87 (pH 6) kJ/mol (the mean values of E_a at 5 °C/h and 10 °C/h) respectively. The corresponding isothermal method values were 16.12 (pH 2), 18.01 (pH 4) and 23.93 (pH 6) kJ/mol respectively. **Conclusion** The results indicated that the kinetic parameter determined by the non-isothermal method was in good accord with that of isothermal method. These results indicated that the non-isothermal method described in this study could be adequately used for the stability study and was a rapid and accurate method for the determination of kinetic parameters.

KEY WORDS non-isothermal method; isothermal method; kinetic parameter; aspirin; degradation

在新药的研制与开发中, 其稳定性实验是决定研发周期的关键一步, 为了缩短研究周期, 研究者在不断的寻找一种能在短时间内高效率、高精度的测定方法完成药物稳定性的研究。目前在此类研究中, 通常采用的是经典恒温加速实验^[1, 2], 该方法需选取 3~5 个实验条件和 3~5 个实验温度, 共需数十次实验, 每次实验通常又需取样测定 8~10 次, 使得实验量大, 耗时长。这就提示我们, 在此项研究中, 如果采用程序升温加速实验^[3]来代替恒温加速实验, 可大大减少实验次数。本研究在程序升温加速实验的基础上, 结合化学动力学的原理, 在温度按

一定的规律变化的过程中, 找出药物的残存量与时间的关系, 通过非线性最小二乘法求出药物降解的动力学参数。该方法可使实验量大为减少, 极大地缩短稳定性的研究周期。为了验证其有效性, 笔者以阿司匹林 (aspirin) 为模型药物, 通过变温加速实验, 解析其降解反应的动力学参数 E_a 及 A 。与等温加速法比较验证该法的准确性, 从而为药物稳定性的研究提供一种快速、简便、有效的方法。

1 仪器与材料

UV-260 紫外扫描仪 (日本岛津), 681 型磁力加热搅拌器 (上海南汇器材厂), 程序升温器 (由 LB-801 型超级恒温器自行改制)。阿司匹林 (桂林制药厂), 其它试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 分析方法的建立

2.1.1 最大吸收波长的测定 取阿司匹林适量,精密称定,分别用 pH 2.0、pH 4.0 和 pH 6.0 的缓冲液配成适宜浓度的溶液,于 200 ~ 400 nm 的波长范围内紫外扫描,测得其最大吸收波长为 279 nm。

2.1.2 标准曲线的绘制 精密称定阿司匹林对照品约 40 mg,分别用 pH 2.0、pH 4.0 和 pH 6.0 的缓冲液制成系列溶液,于 279 nm 处测定吸收度,以浓度对吸收度进行线性回归,得出不同溶剂中的标准曲线见表 1。

表 1 不同 pH 溶液中阿司匹林的线性回归方程

溶液 pH 值	线性方程	R ²
pH 2.0	$C(\text{mg/L}) = 213.03A - 0.3865$	0.9998
pH 4.0	$C(\text{mg/L}) = 215.45A - 0.2769$	0.9996
pH 6.0	$C(\text{mg/L}) = 213.87A - 0.3305$	0.9997

2.1.3 分析方法的确证 配制阿司匹林线性范围内低、中、高三个浓度的样品,一天内连续测定 3 次,测定结果见表 2。从表 2 所列的结果可以看出,该方法的准确性和日内精密度良好。

表 2 阿司匹林的日内回收率测定值 (n = 3)

浓度 (mg/L)	日内	
	平均回收率 (%)	RSD (%)
110.51	99.45	0.98
138.11	100.45	1.17
165.73	100.54	0.95

2.2 缓冲液的配制 按照《中国药典》2005 年版分别配制 pH 2.0、pH 4.0、pH 6.0 的缓冲液,用 NaCl 调成离子强度 (μ) 为 0.5 的溶液。

2.3 样品的配制 使用上述 pH 2.0、pH 4.0、pH 6.0 的缓冲液,将阿司匹林配成浓度为 0.1% (w/v) 的样品溶液。备用。

2.4 等温法测定稳定性 分别取 pH 值为 2.0、4.0、6.0 的样品溶液各 100 mL,装于量瓶中置于

40、50、60 °C 的恒温水浴中,定时精密吸取样品 5 mL,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后,滤液稀释适当倍数,测定吸收度,将测定结果代入“2.1.2”节线性方程中求出浓度。

2.5 非等温法测定稳定性 分别取 pH 值为 2.0、4.0、6.0 的样品溶液各 100 mL,装于量瓶中分别置于恒温加热器中,设定升温程序,在 25 ~ 85 °C 的温度区间内,分别按一定速率 (5 °C/h、10 °C/h) 升温,定时精密吸取样品 5 mL,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后,滤液稀释适当倍数,测定吸收度,将测定结果代入“2.1.2”节线性方程中求出浓度。

3 结果与讨论

3.1 非等温加速法的动力学原理 对于 n 级反应其动力学方程可表示为式 (1):

$$\frac{dC}{dt} = -k[C_0]^{n-1}C^n \quad (1)$$

其中, C_0 为药物的起始浓度, C 为 t 时刻药物的残存量, k 为速率常数, n 为反应级数。式 (1) 还可以表示成式 (2) 的形式。

$$\frac{1}{[C_0]^{n-1}C^n} dC = -k dt \quad (2)$$

根据动力学原理, k 与温度的关系服从 Arrhenius 方程式 $k = A e^{-E_a/R T}$, 如果将 Arrhenius 方程式中指数项的温度按一定速率升温时,将式 (2) 的右侧设为 $F(t)$, 则有:

$$F(t) = A e^{-E_a/R/(at+T_0)} dt \quad (3)$$

式 (3) 中, A 为指前因子, R 为气体常数, a 为升温速率, T_0 为起始温度。如果通过实验测出某一温度 (T_{exp}) 下的 k_{exp} 值, A 可表示为 $A = k_{exp} e^{E_a/R T_{exp}}$, 代入式 (3) 得式 (4)。

$$F(t) = k_{exp} e^{E_a/R T_{exp}} \cdot e^{-E_a/R/(at+T_0)} dt \quad (4)$$

将式 (4) 作近似积分^[3]得,

$$F(t) = \frac{E_a k_{exp} e^{E_a/R T_{exp}}}{aR} \times \left[\frac{e^{-E_a/R/(at+T_0)}}{E_a/R/(at+T_0)} - \frac{e^{-E_a/R T_0}}{E_a/R T_0} - E_i(-E_a/R T_0) + E_i(-E_a/R/(at+T_0)) \right] \quad (5)$$

式 (5) 中,

$$E_i(-E_a/R T_0) = \frac{a + b(-E_a/R T_0) + (-E_a/R T_0)^2 e^{E_a/R T_0}}{c + d(-E_a/R/(at+T_0)) + (-E_a/R/(at+T_0))^2 e^{-E_a/R/(at+T_0)}}$$

$$E_i(-E_a/R/(at+T_0)) = \frac{a + b(-E_a/R/(at+T_0)) + (-E_a/R/(at+T_0))^2 e^{(-E_a/R/(at+T_0))}}{c + d(-E_a/R/(at+T_0)) + (-E_a/R/(at+T_0))^2 e^{(-E_a/R/(at+T_0))}}$$

上式中 a b c d为积分常数。如果降解反应的级数已确定,可根据对应级数反应的动力学方程(不同时间反应物浓度与时间的关系式)代入实验值 t及 C, 结合式(5), 即可求出反应的 E_a 值。

3.2 阿司匹林降解反应的机理 在 40 50 60 °C 的恒定温度下, 分别测定了 pH 值为 2.0 4.0 6.0 的溶液中阿司匹林的经时浓度变化。现以 40 °C 各 pH 值溶液中剩余阿司匹林的浓度的对数对时间作图, 结果见图 1。

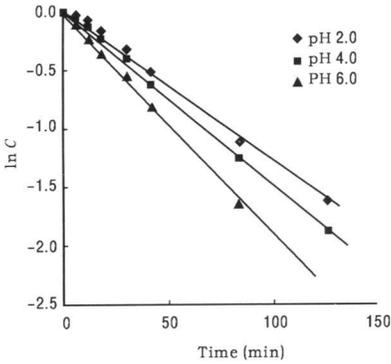


图 1 40 °C 时于不同 pH 溶液中阿司匹林降解的 ln C 对时间的关系

同时, 将 50 60 °C 各 pH 值溶液中剩余阿司匹林的浓度的对数对时间作图, 同样显现出良好的线性关系, 根据动力学原理推断阿司匹林的降解反应为准一级反应。通过各温度下降解反应的浓度的对数与时间线性关系求出速率常数, 一同表示在表 3。

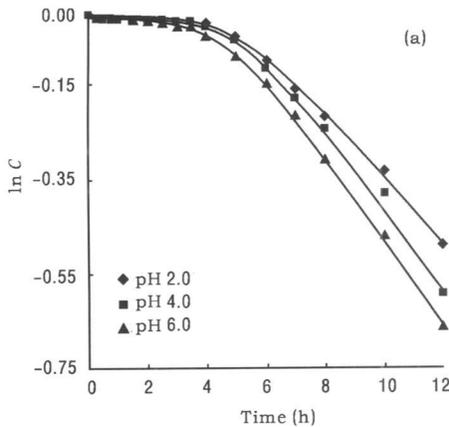


表 3 于不同温度及 pH 溶液中阿司匹林降解的表观速率常数 (k_{obs}) 和线性回归系数 (R²)

pH	T (°C)	k _{obs} (h)	R ₂
2.0	40	0.0811	0.9902
	50	0.0920	0.9932
	60	0.1378	0.9911
4.0	40	0.1039	0.9920
	50	0.1202	0.9956
	60	0.1777	0.9801
6.0	40	0.1193	0.9823
	50	0.1369	0.9901
	60	0.2076	0.9809

3.3 等温加速法测定的动力学参数 为了求出等温反应阿司匹林的降解的活化能及指前因子, 现将表 3 中各温度下的对 ln k_{obs} / T 作图, 从直线的斜率及截距可求出 E_a 及 A。其关系图见图 2。

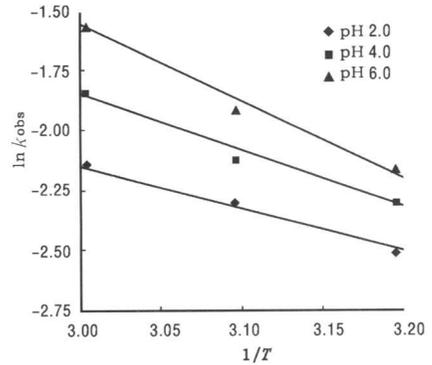


图 2 在不同 pH 溶液中阿司匹林降解反应的 ln k 与 1/T 关系

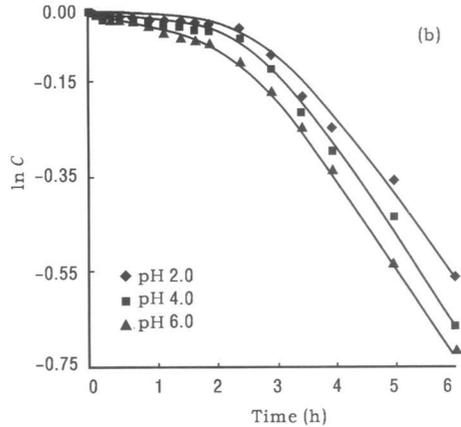


图 3 在不同升温速率 5 °C / h (a)、10 °C / h (b) 下阿司匹林降解的 ln C 对时间的关系

3.4 变温加速法求得的动力学参数 将各 pH 值的阿司匹林溶液, 在 25~ 85 °C 的温度区间内, 分别

按一定速率 (5 °C / h 10 °C / h) 升温, 各样品的 ln C 与 t 的关系图如图 3 所示。

表 4 不同方法中阿司匹林降解反应的活化能 (E_a) 与频率因子 (A)

pH	等温加速法		变温加速法			
	E_a (kJ/mol)	$\log A$ (1/h)	5 °C /h		10 °C /h	
			E_a (kJ/mol)	$\log A$ (1/h)	E_a (kJ/mol)	$\log A$ (1/h)
2.0	16.12	3.66	16.11	3.73	16.13	3.65
4.0	18.01	4.63	18.34	4.71	18.04	4.65
6.0	23.93	7.05	23.78	6.79	23.95	7.06

根据阿司匹林在不同 pH 值溶液中的反应均表现为准一级, 将阿司匹林的剩余浓度 C 及对应的时间分别代入一级反应的动力学方程及式 (5), 式 (5) 中的 k_{ep} 代入 40 °C 的数据, 将按非等温加速法计算结果与等温加速法测定的 E_a 及 A 一并列入表 4。

表 4 的数据表明, 采用变温加速法测定的 E_a 及 A 与等温法测得的 E_a 及 A 基本一致。

4 结论

本文以阿司匹林为模型药物, 通过其在不同 pH 值溶液中的等温加速反应, 确定了其降解为准一级反应。通过变温加速法求得的阿司匹林降解反应的 E_a 及 A 与等温加速实验测得的结果基本一致。所

以变温加速法同样可以应用于药物稳定性研究, 并且, 变温加速法解析阿司匹林降解反应的动力学参数与等温加速法相比具有迅速、可靠、简便、用样量少等特点。

参考文献:

- [1] 李 凡, 徐建军, 倪海峰. 运用经典恒温加速实验推断维生素 C 注射液的贮存期 [J]. 宁夏石油化工, 2001, 增刊: 24
- [2] 吴 春, 聂 芊, 吴艳华. 紫甘蓝色素热稳定性的动力学研究 [J]. 应用科技, 2001, 28(8): 57
- [3] Matsunaga H, Miyake S, Nishijima K. Stability study of cefozopran monohydrochloride using non-isothermal method [J]. Yakurugaku Zasshi 1998 118(1): 19-26.

收稿日期: 2007-03-19

(上接第 89 页)

- [5] 朱雄翔, 汤朝武, 陈 璧. 烧伤早期及丹参对中性粒细胞化学发光的影响. 第四军医大学学报, 1999, 20(10): S60
- [6] 郝 玉, 邱全瑛, 吴 君, 等. 黄芪多糖对血管内皮细胞与白细胞黏附的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 1999, 15(5): 766
- [7] 吴大正. 黄芪甲甙对组胺引起血管内皮细胞单层通透性增高的作用 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2001, 7(2): 36
- [8] 王 鹏, 刘学法, 王佑华, 等. 鸡胚法筛选促血管生成中药的研究. 中国中医药科技, 2005, 12(4): 225
- [9] 刘启功, 王 琳, 陆再英, 等. 丹参注射液对犬缺血区心肌梗死区供血的影响 [J]. 中国医院药学杂志, 1999, 9(11): 653
- [10] 徐 杰, 范维琥. 丹参多酚酸盐对血管内皮细胞迁移的影响 [J]. 中西医结合学报. 2003, 1(3): 211.
- [11] 沈映君. 中药药理学 [M]. 北京, 人民卫生出版社, 2000: 861
- [12] Shyu KG, Tsai SC, Wang BW, et al. Saikosaponin C induces endothelial cells growth, migration and capillary tube formation [J]. Life Sci 2004 76(7): 813.
- [13] 朱瑾波, 李玉鼎, 李玉书, 等. 黄芪治疗慢性皮肤溃疡对血管生成过程的机制研究 [J]. 河北中医, 1996, 18(4): 21
- [14] 邱 克, 杨继洲, 李玉平, 等. 黄芪注射液促进痔疮创面修复的临床研究 [J]. 湖北中医学院学报, 2000, 2(4): 24
- [15] 李 绚, 阎蓉华, 罗照田, 等. 黄芪注射液对人脐静脉血管内皮细胞的增殖作用 [J]. 华西药学报, 2005, 20(1): 048
- [16] 周大兴, 陆 红, 赵育芳, 等. 不同川芎对血管平滑肌收缩影响的对比研究 [J]. 浙江中医学院学报, 2002, 26(2): 46
- [17] 范 立, 吕爱刚, 可 君. 川芎嗪对离体兔血管平滑肌和豚鼠盲肠肠带的作用 [J]. 新药与临床, 1997, 16(4): 211.
- [18] 濮哲铭, 朱文玲, 金征宇, 等. 中药川芎嗪拮抗内皮素-1 致

- 冠脉收缩效应的初步观察 [J]. 中国医学科学院学报, 1996, 18(2): 133.
- [19] 黄雯南. 川芎嗪对舒血管作用的部位差异性及其对钙释放的抑制 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 1997, 11(3): 199
- [20] 刘 强, 李 智, 詹丽芳, 等. 葛根素对大鼠、豚鼠主动脉、肺动脉血管平滑肌和作用 [J]. 中国药理学会通讯, 2000, 17(2): 65
- [21] 冯志杰, 姚希贤. 泽泻对肝硬化门脉高压大鼠离体血管的扩张效应 [J]. 中华实用医学, 2000, 2(6): 7.
- [22] 雷开键, 吴 芹, 石京山, 等. 灯盏花素对血管收缩的效应与细胞内游离钙的关系 [J]. 中国药理通讯, 2003, 20(1): 29
- [23] 周伟东, 潘明新, 何红兵, 等. 川芎嗪和阿斯匹林对组织培养中内皮细胞生长的影响 [J]. 第一军医大学学报, 1992, 19: 52
- [24] 肖 静. 计算机图像处理系统用于 VSMC 形态定量分析 [J]. 生物医学工程学, 1997, 14(4): 346
- [25] 陆东风, 刘 威, 李昭骥. 雷公藤内酯醇对大鼠血管平滑肌细胞的增殖及 DNA 合成的影响 [J]. 岭南心血管病杂志, 2002, 8(6): 418
- [26] 张 涛, 杜兰萍, 崔 萍, 等. 水蛭和丹参对血管平滑肌细胞增殖的抑制作用及其机理 [J]. 中西医结合杂志, 1999, 18(3): 159
- [27] 夏 豪. 三七总皂甙对兔颈动脉内皮剥脱术后 *c-myc* 基因表达及血管平滑肌增殖的影响 [J]. 中国介入心脏病学杂志, 1997, (1): 45.
- [28] 周小霞, 苏佩清, 杨鹤梅, 等. 三七总皂甙对大鼠高脂血清诱发的胎儿血管平滑肌增殖的抑制作用 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2000, 8(1): 43.

收稿日期: 2007-01-18