

依达拉奉的化学动力学及其制剂的稳定性预测

孙洁胤¹,周芝芳¹,刘放¹,俞建生²,张淑芸² (1.浙江省医学科学院,浙江 杭州 310013;2.浙江震元制药,浙江 绍兴 312000)

摘要:目的 研究依达拉奉的化学降解动力学,预测制剂的稳定性。方法 采用恒温加速法对依达拉奉及其注射剂在不同温度不同时间的含量和有关物质进行考察,采用反相 HPLC方法进行定量分析,通过数学拟合,确定反应动力学方程。并运用 Arrhenius公式,预测依达拉奉水溶液和注射剂在常温下的稳定性。结果 依达拉奉和注射剂的含量下降符合一级动力学模型,有关物质增加符合零级动力学模型。依达拉奉在 25℃时的 $t_{0.9}$ 为 70d,其注射剂在 25℃时的 $t_{0.9}$ 为 3.2年。结论 通过制剂学手段,显著提高了依达拉奉注射剂的稳定性。

关键词:依达拉奉;化学动力学;稳定性

中图分类号:R971;R969.1

文献标识码:A

文章编号:1007-7693(2005)04-0298-03

Study on chemical dynamics and stability of edaravone

SUN Jie-yin¹, ZHOU Zhi-fang¹, LIU Fang¹, YU Jian-sheng², ZHANG Shu-yun² (1. Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China; 2. Zhejiang Zheyuan Pharmaceutical Co., Ltd. Shaoxin 312000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the chemical dynamics of edaravone solution and injection, and determine their storage time. **METHODS** The constant temperature acceleration test was used according to the principles of chemical dynamics. The content and related substances of edaravone was determined by RP-HPLC method. The reaction rate constant (k) and its term of validity at room temperature was calculated by Arrhenius equation. **RESULTS** The data showed that the kinetics of the content of edaravone solution and injection followed the first order reaction, and the kinetics of related substances followed the zero order reaction. $T_{0.9}$ of edaravone solution and injection were 70 days and 3.2 years respectively. **CONCLUSION** The results shows that the stability of edaravone injection has been strengthened by pharmaceutical method.

KEY WORDS: edaravone; chemical dynamics; stability

脑梗塞是中老年人的常见病、多发病,是现今人类死亡率最高的三大疾病之一,也是三大疾病中发展最快、恢复最慢、死亡最多、致残最重的病种。据 WHO公布的资料显示,在 57个国家中,有 40个国家将脑梗塞的死亡率列入第三位,其中在中国和日本已居首位。

依达拉奉(edaravone)是一种神经保护剂,通过清除自由基,抑制过氧化脂质的生成,从而防止了神经细胞膜的氧化损伤,其作用机制不是通过纤溶作用,故可用于治疗具有出血倾向的脑栓塞。由日本三菱化学制药公司独家开发的依达拉奉注射剂(RADICUT)已于 2001年 4月在日本获准上市,用于治疗神经损伤症状,减轻日常活动障碍及脑梗死急性发作的瘫痪。临床研究表明,使用本品 2周后,有关神经症状、日常生活动作障碍的完全改善率为 32.8%,在脑梗塞发病后 24与 72h内用药,改善神经症状与生活动作障碍的有效率分别为 74%与 65%,而不良反应与安慰剂相当^[1~4]。因此,认为该药用于治疗急性脑梗塞所致的神经功

能损伤,有较高的临床应用价值。

由于依达拉奉本身是一种抗氧剂,易被氧化。研究依达拉奉的化学降解动力学,对其稳定性和有效期的评价及生产中的质量监控具有重要意义。本研究利用经典恒温加速法^[5],研究了依达拉奉及其注射剂在几种不同温度下的化学降解动力学。并运用 Arrhenius公式,预测依达拉奉水溶液和注射剂在常温下的稳定性。

1 药品与试剂

依达拉奉,依达拉奉注射剂(自制),乙腈(色谱纯),NaAc(分析纯)。

2. 方法与结果

2.1 HPLC测定方法^[6]

2.1.1 色谱条件 仪器:SHIMADZU LC10A_{vp} HPLC仪,SPD10A_{vp}紫外可见检测器,浙江大学 N2000色谱工作站;色谱柱:Alltima C8柱(250mm×4.6mm);流动相:乙腈-NaAc缓冲液=35:65;流速:1.0mL/min;检测波长:240nm;进样量:

作者简介:孙洁胤(1976-),女,1999年毕业于浙江大学药学院。现任浙江省医学科学院药物研究所制剂研究室助理研究员,从事药物制剂研究工作。Tel:0571-88215628

20 μ L。

2.1.2 含量测定 取依达拉奉水溶液(或注射剂),用流动相制成每1mL中约含30 μ g的溶液,作为供试品溶液。另取依达拉奉对照品适量,用流动相制成每1mL中约含30 μ g的溶液,作为对照品溶液。精密吸取样品溶液和对照品溶液各20 μ L注入液相色谱仪,记录色谱图和峰面积,以外标法计算含量。

2.1.3 有关物质测定方法 取依达拉奉水溶液(或注射剂),用流动相制成每1mL中约含300 μ g的溶液,作为测定液。精密吸取1mL,用流动相稀释至每1mL中约含30 μ g,作为自身对照液。精密吸取测定液和自身对照液各20 μ L注入液相色谱仪,计算有关物质含量。

2.2 依达拉奉水溶液的化学动力学研究及预测其在常温下的有效期

取依达拉奉水溶液(1.5mg/mL),置于不同温度下放置(60,70,80 $^{\circ}$ C)。分别于不同的时间取样,用HPLC测定含量和有关物质,结果见表1。

表1 依达拉奉水溶液在不同温度条件下的含量及有关物质的变化

Tab 1 The content and related substances of edaravone solution at different temperature

温度($^{\circ}$ C)	时间(d)	含量(mg/mL)	百分含量(%)	有关物质(%)
80 $^{\circ}$ C	0	1.5039	100.0	0.3422
	0.5	1.5038	100.0	0.7932
	1.0	1.4909	99.14	1.3776
	1.5	1.4420	95.89	1.5266
	2.0	1.3905	92.46	2.2054
70 $^{\circ}$ C	0	1.5039	100.0	0.3422
	1	1.5002	99.75	0.7882
	2	1.4207	94.47	1.2229
	3	1.4154	94.11	2.1156
	4	1.3764	91.52	2.1627
60 $^{\circ}$ C	0	1.5039	100.0	0.3422
	2	1.4771	98.22	0.5880
	4	1.4131	93.96	0.9740
	6	1.3752	91.44	1.3169
	8	1.3590	90.36	1.4977

依达拉奉水溶液的浓度随反应时间的延长而下降,为了寻找浓度与时间之间的函数关系,对实验数据进行分析:分别以浓度和浓度的自然对数 $\ln X$ 对 t 进行相关性检验,发现依达拉奉的降解基本符合一级动力学反应。以不同时间浓度的自然对数对 t 作图,可得到直线,结果见图1。温度越高,含量下降越快。

在含量减少的同时,有关物质有明显增加。为了寻找有关物质与时间之间的函数关系,对实验数据进行分析:分别以有关物质浓度和有关物质浓度的自然对数对 t 进行相关性检验,发现依达拉奉的降解基本符合零级动力学反应。以不同时间有关物质对 t 作图,结果见图2。温度越高,有关物质增加越快。

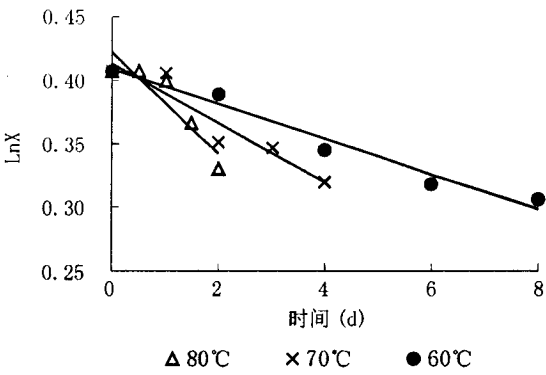


图1 依达拉奉水溶液在不同温度条件下的含量变化
Fig 1 The content change of edaravone solution at different temperature

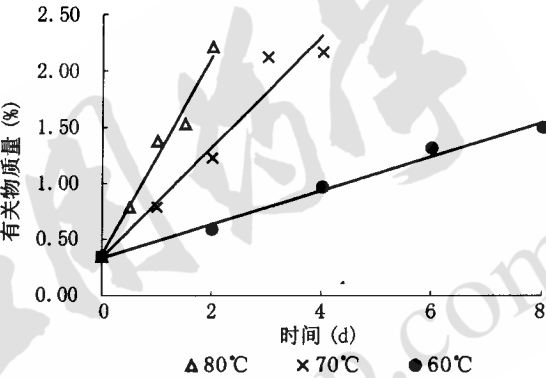


图2 依达拉奉水溶液在不同温度条件下的有关物质变化
Fig 2 The related substances change of edaravone solution at different temperature

图1~2表明温度对依达拉奉的稳定性有显著影响,温度越高,含量下降和有关物质增加越快。

根据 Arrhenius 方程,温度与反应速度常数有函数关系: $k = k_0 e^{-(E/RT)}$,故 $\ln k$ 与 $1/T$ 有线性关系。由表1求出依达拉奉在80,70,60 $^{\circ}$ C时含量下降的反应速度常数 k 分别为0.0398,0.0235,0.0137,以 $\ln k$ 对 $1/T$ 作图,得出回归方程: $\ln k = 14.5000 - 6257.714/T, r = -0.99997$ 。从而可预测:当 $T = 298K$ 时, $k_{25^{\circ}C} = 0.001505, t_{0.9} = -\ln 0.9/k_{25^{\circ}C} = 70d$ 。即依达拉奉水溶液在25 $^{\circ}$ C时含量下降到90%需要70d。

2.3 注射剂在不同温度下的化学动力学研究及预测其在常温下的有效期。

通过制剂学方法,添加适当的附加剂,将依达拉奉配成注射剂,分别于不同温度下放置(80,90,100,110 $^{\circ}$ C)。分别于不同的时间取样,用HPLC法测定含量和有关物质,结果见表2。

从表2可见,依达拉奉注射剂的浓度随反应时间的延长也有所下降,分别以浓度和浓度的自然对数对 t 进行相关性检验,发现依达拉奉注射剂的降解也基本符合一级动力学反应。以不同时间浓度的自然对数($\ln X$)对 t 作图,可得到直线,结果见图3。温度越高,含量下降越快。在含量减少的同时,有关物质也有明显增加,分别以有关物质浓度和有关物

质浓度的自然对数对 t 进行相关性检验,发现依达拉奉的有关物质增加基本符合零级动力学反应。以不同时间有关物质对 t 作图,结果见图 4。温度越高,有关物质增加越快。

表 2 依达拉奉注射剂在不同温度条件下的含量及有关物质的变化

Tab 2 The content and related substances of edaravone injection at different temperature

温度(℃)	时间(d)	含量(mg/mL)	百分含量(%)	有关物质(%)
110	0	1.5334	100.0	0.3470
	0.5	1.5073	98.30	2.8075
	1.0	1.4711	95.93	7.9817
	1.5	1.4161	92.35	14.4743
	2.0	1.2727	83.00	22.2229
100	0	1.5334	100.0	0.3470
	1	1.4602	95.23	3.7855
	2	1.4068	91.74	9.1347
	3	1.3631	88.89	14.4264
	4	1.2641	82.44	18.7314
90	0	1.5336	100.0	0.3470
	2	1.4478	94.42	1.8416
	4	1.3747	89.65	7.9407
	6	1.3409	87.44	9.1828
	8	1.2832	83.68	12.1945
80	0	1.5336	100.0	0.3470
	4	1.4753	96.21	1.2691
	8	1.4371	93.72	4.9186
	12	1.3523	88.19	11.4950
	16	1.2734	83.04	15.5248

图 3~4 表明温度对依达拉奉注射剂的稳定性有也有影响,且温度越高,含量下降和有关物质增加越快。

根据 Arrhenius 方程,由表 2 求出依达拉奉在 110、100、90、80℃ 时含量下降的反应速度常数 k 分别为 0.0870、0.0455、0.0217、0.0115,以 $\ln k$ 对 $1/T$ 作图,得出回归方程: $\ln k = 21.6126501 - 9217.4091/T, r = -0.9991$ 。从而可预测:当 $T = 298K$ 时, $k_{25^\circ\text{C}} = 8.98 \times 10^{-5}$, $t_{0.9} = -\ln 0.9/k_{25^\circ\text{C}} = 1174d = 3.2$ 年。即依达拉奉注射液在 25℃ 时含量下降到 90% 需要 3.2 年。

3 讨论

3.1 本实验在对含量进行考察的同时,对有关物质进行了考察,发现有关物质增加的速度呈零级动力学速度,且有关物质增加的速度也与温度有关,温度越高,有关物质增加速度越快。

3.2 在实验中发现,依达拉奉在高温状态下极易出现黄色浑浊和沉淀,在 90℃ 时 1d 内即可产生黄色沉淀。而注射剂由于采用了制剂学的手段,提高了药品的稳定性,即使在 110℃ 16d 后,仍保持无色澄明。

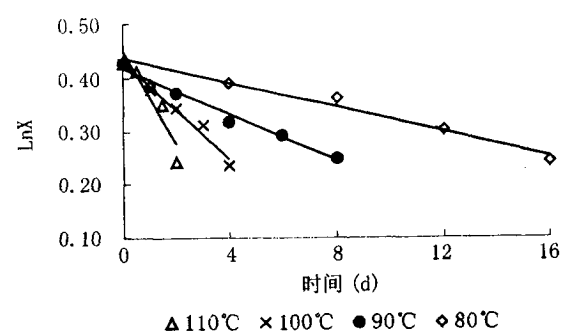


图 3 依达拉奉注射剂在不同温度条件下的含量变化
Fig 3 The content change of edaravone injection at different temperature

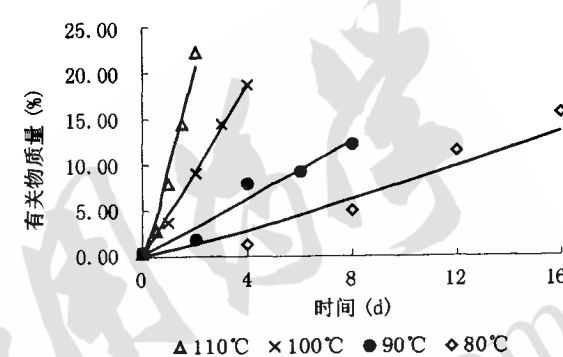


图 4 依达拉奉注射剂在不同温度条件下的有关物质变化
Fig 4 The related substances change of edaravone injection at different temperature

参考文献

[1] 陈静宜. 一种改善脑卒中病残性药物——依达拉奉[J]. 中国临床药杂志. 2002, 11(4): 244.

[2] Tabrizchi R. Edaravone Mitsubishi-Tokyo [J]. Curr Opin Invest Drugs, 2000, 1(3): 347.

[3] Graul A, Castaner J. Edaravone [M]. Drug Future, 1996, 21: 1014-1016.

[4] Watanabe T, Morita I, Nishi H, Murota S. Preventive effect of MCI-186 on 15-HPETE induced vascular endothelial cell. Injury in vitro [J]. Prostaglandins Leukotrienes Essent Fatty Acids, 1988, 33(1): 81-87.

[5] 奚念朱. 药剂学[M]. 第三版, 北京: 人民卫生出版社, 1996: 141.

[6] Honda S, Akao E, Suzuki S, et al. High-performance liquid chromatography of reducing carbohydrates as strongly ultraviolet-absorbing and electrochemically sensitive 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone derivatives [J]. Anal Biochem, 1989, 1; 180(2): 351.

收稿日期: 2003-02-17