阿伦尼乌斯方程在注射用右雷佐生杂质增长预测中的应用

刘 洋，张雅茹，周佳佳，章晓骅，徐 丹
（南京正大天晴制药有限公司制剂所，江苏南京 210046）

摘要：采用阿伦尼乌斯方程预测注射用右雷佐生杂质变化趋势。考察注射用右雷佐生在50、60、65、75、80 ℃下杂质A和杂质B水平，计算速率常数（k），采用标准最小二乘法线性回归得杂质A的阿伦尼乌斯方程为$\ln k=-9.612-3.7/T$（R^2=0.953 8，P<0.000 1），杂质B的阿伦尼乌斯方程为$\ln k=-7.546-2.3/T$（R^2=0.959 1，P<0.000 1）。采用拟合的阿伦尼乌斯方程预测3批中试制剂在25 ℃放置12个月的杂质A与杂质B水平，并计算与实测值的偏差。3批制剂中杂质A的预测值与实测值的偏差分别为0、16.67%和0，杂质B的预测值和实测值的偏差分别为4.76%、5.26%和5.56%；并预测在25 ℃放置51个月内，注射用右雷佐生制剂杂质水平在限度范围内。该研究建立的阿伦尼乌斯方程能有效预测注射用右雷佐生杂质A和杂质B的增长趋势，可作为本品稳定性研究的数据支持。

关键词：阿伦尼乌斯方程；右雷佐生；稳定性；预测
中图分类号：R979.1$^+$9　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2022)10-1511-05
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2022.10.019

Application of Arrhenius Equation for Prediction of Impurity Growth of Dexrazoxane for Injection

LIU Yang, ZHANG Yaru, ZHOU Jiajia, ZHANG Xiaohua, XU Dan
(*Institute of Pharmaceutics, Nanjing Chia-Tai Tianqing Pharmaceutical Co., Ltd., Nanjing 210046*)

ABSTRACT: The Arrhenius equation was used to predict the impurity growth trend of dexrazoxane for injection. The levels of impurities A and B were measured at 50, 60, 65, 75 and 80 ℃, and the rate constant (k) values for both was calculated. The Arrhenius equation of impurity A was $\ln k=-9.612-3.7/T$ (R^2=0.953 8, P<0.000 1), and the Arrhenius equation of impurity B was $\ln k=-7.546-2.3/T$ (R^2=0.959 1, P<0.000 1) by standard least squares linear regression. Then, the obtained Arrhenius equations were used to predict the levels of impurities A and B of 3 pilot batches of dexrazoxane for injection stored at 25 ℃ for 12 months, and the deviations of the predicted and measured values of impurity A were 0, 16.67% and 0, while the deviations of the predicted and measured values of impurity B were 4.76%, 5.26% and 5.56%, respectively. It was predicted that the levels of impurities A and B in dexrazoxane for injection stored at 25 ℃ were below limits in 51 months. The Arrhenius equation established in this paper can effectively predict the growth of impurities A and B of dexrazoxane for injection, which can be used as data support for the stability study of this product.

Key Words: Arrhenius equation; dexrazoxane; stability; prediction

药品有效期是指药品在一定贮存条件下保持物理化学稳定且微生物在限度范围内的期限。效期稳定性是研究产品稳定性和确定产品有效期最可靠的方法，但该方法周期长，不利于产品开发或变更阶段的风险早期发现及改进，大幅限制了其应用[1]。因此，在新产品开发阶段，建立一种更快捷有效的稳定性预测方法显得尤为重要。基于阿伦尼乌斯方程的加速稳定性预测方法是公认的策略之一[2—3]。

收稿日期：2022-07-05
作者简介：刘 洋(1991—)，男，硕士，制剂研究员，从事灭菌/无菌制剂、复杂制剂产品研发工作。
E-mail：xznn_ly@126.com

李月月等将湿度校正的阿伦尼乌斯方程用于头孢西丁钠标准物质原料稳定性的预测，可用于确定标准物质储存、运输条件和质量监控周期[2]。杨梅等将阿伦尼乌斯方程用于预测体外诊断试剂的有效期，以缩短试剂开发周期[1]。

右雷佐生（dexrazoxane，**1**）具有双二氧代哌嗪结构，进入体内后易开环形成类似于乙二胺四乙酸的衍生物，可通过与铁离子螯合来抑制铁依赖性自由基氧化应激对心肌细胞的损伤作用[4]，注射用**1**是目前唯一获批的用于预防蒽环类药物心脏毒性的保护剂，已被国内外多则指南推荐用于蒽环类药物心脏毒性的防治[5]。但本品对热、湿不稳定，为了研究本品稳定性，降低产品开发的时间成本，本研究采用恒温加速法研究了注射用**1**在不同温度下的有关物质变化，探讨其化学降解动力学，并应用阿伦尼乌斯方程，预测注射用**1**在常温下的稳定性和有效期，为药品的贮存和临床上的用药安全性提供数据支持。

1　仪器与试药

ME365型电子天平（德国赛多利斯公司）；1260型高效液相色谱仪（美国安捷伦公司）；IS412C型高温恒温培养箱（日本雅马拓公司）；JMS-1型真空手套箱（南京九门自控技术有限公司）；RHTemp1000型温湿度传感器（美国迈奇达公司）；步入式药品稳定性试验室（南京拓展科技有限公司）。

注射用**1**（批号200326、200328、200331）、杂质A（含量98.2%，批号DX19101101）、杂质B（含量98.8%，批号DX19101102）均来源于南京正大天晴制药有限公司；乙腈（色谱纯，美国TEDIA公司）；盐酸（分析纯，南京化学试剂股份有限公司）。

2　方法与结果

2.1　加速试验

将注射用**1**样品（批号200331）分为5组，分别放入50、60、65、75、80 ℃的高温恒温培养箱中，分别于不同时间取样，并立即置4 ℃终止反应，测定有关物质。

2.2　杂质A和杂质B检测

2.2.1　检测方法

按《中华人民共和国药典》2020年版四部通则0512高效液相色谱法测定。

色谱条件：色谱柱C_{18}柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相A为5 mmol/L磷酸二氢钾溶液，B为乙腈，线性梯度洗脱（程序如表1所示）；流速1 ml/min；柱温25 ℃；检测波长208 nm；进样量20 μl。

表1　线性梯度洗脱程序

Tab.1　Linear Gradient Elution Procedure

时间/min	流动相A/%	流动相B/%
0.00	100	0
10.00	100	0
40.00	65	35
50.00	65	35
50.01	100	0
60.00	100	0

方法学验证结果如下。各杂质峰间分离度大于1.5；杂质A在0.38～3.81 μg/ml内的线性方程为y=1.838 7x－0.422 0（r=0.997 3）；检测限（$S/N \geqslant 3$）为1.43 ng，定量限（$S/N \geqslant 10$）为2.86 ng，回收率在81.6%～97.6%（RSD=8.2%）；进样精密度（n=6）：峰面积RSD=1.9%，保留时间RSD=0.2%；重复性较好，平均含量=0.04%，极差=0.02%（n=6）；中间精密度（n=12）：平均含量=0.04%，极差=0.02%。杂质B在1.30～12.97 μg/ml内的线性方程为y=18.861 2x－0.466 5（r=1.000 0）；检测限（$S/N \geqslant 3$）为0.30 ng，定量限（$S/N \geqslant 10$）为2.02 ng，回收率在91.3%～114.1%（RSD=7.3%）；进样精密度（n=6）：峰面积RSD=0.5%，保留时间RSD=0.5%；重复性较好，平均含量=0.19%，极差=0.04%（n=6）；中间精密度（n=12）：平均含量=0.19%，极差=0.05%。

2.2.2　不同加速温度下的有关物质测定结果

不同加速温度下注射用**1**样品（批号200331）的有关物质测定结果见表2。由结果可知，温度对注射用**1**的稳定性有显著影响，随着放置时间延长，有关物质水平显著上升。

2.3　阿伦尼乌斯方程的参数计算和预测模型的建立

阿伦尼乌斯方程表达式见式①，两边取对数可化为式②。

表 2 不同加速温度下杂质 A 和杂质 B 测定结果（*n*=4）

Tab.2 Results of Impurities A and B at Different Acceleration Temperatures (*n*=4)

温度/℃	时间/d	有关物质/%	
		杂质A	杂质B
50	0	0.03	0.18
	13	0.04	0.20
	17	0.04	0.21
	21	0.05	0.22
60	0	0.03	0.18
	5	0.03	0.20
	10	0.04	0.21
	30	0.06	0.24
65	0	0.03	0.18
	9	0.04	0.20
	14	0.05	0.21
	21	0.06	0.23
75	0	0.03	0.19
	2	0.03	0.20
	6	0.04	0.21
	18	0.07	0.24
80	0	0.03	0.18
	2	0.04	0.20
	14	0.07	0.24

$$k=Ae^{-E_a/RT} \quad ①$$

式中：k 为速率常数，A 为指前因子，E_a 为活化能，R 为摩尔气体常数（8.314 J·mol^{-1}·k^{-1}），T 为热力学温度。

$$\ln k=\ln A-E_a/RT \quad ②$$

以不同温度下各有关物质水平（y）对时间（t）进行线性回归和相关性检验，结果见表 3。结果显示，注射用 **1** 有关物质水平的增长基本符合一级动力学反应。

表 3 不同温度下杂质 A 和杂质 B 线性回归方程

Tab.3 Linear Regression Equations of Impurities A and B at Different Temperatures

杂质	温度/℃	回归方程	R^2
杂质A	50	y=0.001 1t+0.025 7	0.976 5
	60	y=0.001 1t+0.028 1	0.971 9
	65	y=0.001 5t+0.029 0	0.988 0
	75	y=0.002 3t+0.027 3	0.987 6
	80	y=0.002 7t+0.032 1	0.987 9
杂质B	50	y=0.001 9t+0.178 8	0.982 8
	60	y=0.001 9t+0.186 6	0.952 4
	65	y=0.002 4t+0.179 1	0.994 4
	75	y=0.002 7t+0.192 7	0.990 5
	80	y=0.004 0t+0.185 6	0.960 1

以 dy/dt=k 计算速率常数，得到其自然对数（ln$k$），结果见表 4。

再以 ln$k$ 为因变量，1/T 为自变量，采用 SPSS 25.0 软件，通过标准最小二乘法对 ln$k$ 与 1/T 进行线性回归得阿伦尼乌斯方程，计算得杂质 A 的 E_a 为 30.736 kcal/mol，ln$A$ 为 －9.612；杂质 B 的 E_a 为 19.122 kcal/mol，ln$A$ 为 －7.546。由此建立了预测稳定性的方程，并得到方程的相关统计参数，结果见表 5。

2.4 稳定性及有效期预测

2.4.1 稳定性预测

按“**2.2.1**”项下方法测量 3 批注射用 **1** 在 25 ℃条件下存放 12 个月后杂质 A 和杂质 B 的含量，考

表 4 不同温度下杂质 A 和杂质 B 速率常数及其自然对数结果

Tab.4 Results of Rate Constant and Its Natural Logarithmic of Impurities A and B at Different Temperatures

杂质	50 ℃		60 ℃		65 ℃		75 ℃		80 ℃	
	k	ln$k$	k	ln$k$	k	ln$k$	k	ln$k$	k	ln$k$
杂质A	0.001 1	－6.812 4	0.001 1	－6.812 4	0.001 5	－6.502 3	0.002 3	－6.074 8	0.002 7	－5.914 5
杂质B	0.001 9	－6.265 9	0.001 9	－6.265 9	0.002 4	－6.032 3	0.002 7	－5.914 5	0.004 0	－5.521 5

表 5 阿伦尼乌斯方程系数及评价

Tab.5 Coefficients and Evaluation of Arrhenius Equation

杂质	回归方程	R^2	s	F	P	方程系数	
						E_a/kcal·mol^{-1}	ln$A$
杂质A	ln$k$=－9.612－3.7/T	0.953 8	0.006	29.954	<0.000 1	30.736	－9.612
杂质B	ln$k$=－7.546－2.3/T	0.959 1	0.006	14.209	<0.000 1	19.122	－7.546

察其稳定性，并采用拟合的阿伦尼乌斯方程预测其稳定性，照式③计算偏差。结果见表 6。

偏差 =| 预测值 － 实测值 |/ 实测值 ×100%　　③

表 6　注射用 1 于 25 ℃放置 12 月杂质 A 和杂质 B 的预测结果和实测结果（n=3）

Tab.6　Predicted and Measured Results of Impurities A and B in **1** Injection Stored at 25 ℃ for 12 Months（n=3）

批次	杂质A			杂质B		
	预测值	实测值	偏差/%	预测值	实测值	偏差/%
200326	0.06	0.06	0	0.22	0.21	4.76
200328	0.07	0.06	16.67	0.20	0.19	5.26
200331	0.03	0.03	0	0.19	0.18	5.56

结果显示，200326、200328 和 200331 批样品中杂质 A 的预测值与实测值的偏差分别为 0、16.67%和 0，杂质 B 的预测值和实测值的偏差分别为 4.76%、5.26%和 5.56%。

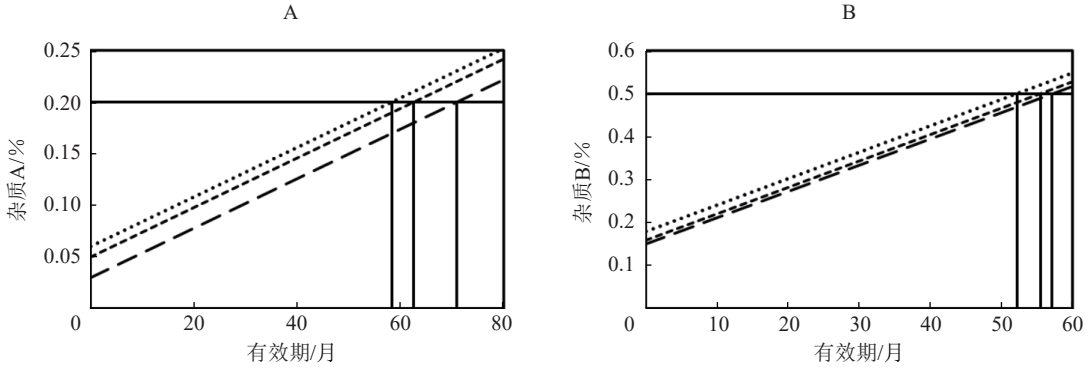
2.4.2　有效期预测

以杂质 A ≤ 0.20%、杂质 B ≤ 0.50%为限度，采用拟合的阿伦尼乌斯方程预测注射用 **1** 在 25 ℃条件下杂质 A、B 的变化趋势。结果显示，200326、200328、200331 批样品杂质 A 在限度（≤ 0.20%）范围内的有效期分别为 59.25、62.47 和 70.80 个月；杂质 B 在限度（≤ 0.50%）范围内的有效期分别为 51.25、53.47 和 56.06 个月。综合杂质 A 和杂质 B 的预测结果，初步推测注射用 **1** 在 25 ℃贮存 51 个月之内，杂质 A 和 B 水平低于标准，结果见图 1。

3　讨论

药物有效期预测方法的理论基础是化学动力学，通过研究动力学的基本规律和不同温度下反应速率，对药物稳定性研究具有重要意义 [6]。阿伦尼乌斯方程是定量描述温度对化学反应速率影响的重要公式，k 受到 E_a 和 A 的影响，其中 A 由反应本质决定，不受温度、浓度等因素影响；化学反应速率的过渡态理论认为，E_a 是反应物分子与中间活化过渡状态分子（活化分子）间的能垒，通常一个反应的活化分子所具有的最低能量是固定的，因此，在采用阿伦尼乌斯方程研究反应速率变化时，可将活化能近似看成是不随温度变化的常数。

基于该理论，本研究采用恒温法，研究了注射用 **1** 的化学降解动力学，得到注射用 **1** 在不同温度下的降解速率常数 k，并采用标准最小二乘法确定了 ln$k$ 与 1/T 的线性回归关系，得到 E_a 和 A，最终得到注射用 **1** 中降解杂质的阿伦尼乌斯方程；采用该方程预测了样品在 25 ℃条件下贮存 12 个月后杂质 A 和杂质 B 的含量，结果与实测值偏差在 20%范围内，表明该模型拟合度较好；同时，采用该方程预测样品中杂质 A 和杂质 B 的变化水平，结果显示样品在 25 ℃贮存 51 个月，这 2 种杂质水平均在限度范围内，可为本品贮存条件及有效期的确定提供依据。尽管本研究采用阿伦尼乌斯方程预测了



A：杂质 A 在限度 0.20%范围内的有效期，B：杂质 B 在限度 0.50%范围内的有效期。

— — —200306批样品；　- - - - -200328批样品；　·····200331批样品。

图 1　阿伦尼乌斯方程预测的注射用 1 稳定性

Fig.1　Predicted Stability of **1** Injection by Arrhenius Equation

注射用 **1** 的有效期，但仅是针对有关物质进行的研究，而药品的有效期需要综合理化性质、微生物属性、密封性等指标的考察结果来制定。因此，本品的有效期还需结合其他项目考察结果，经药品监管部门批准后最终确定。

参考文献：

[1] 杨 梅, 刘君君, 牟晓然, 等. 阿伦尼乌斯方程在体外诊断试剂有效期预测中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2013, **34**(12): 1586-1588.

[2] 李月月, 姚尚臣, 张 夏, 等. 头孢西丁钠标准物质原料稳定性的预测与选择[J]. 中国新药杂志, 2017, **26**(24): 2978-2983.

[3] COLGAN S T, TIMPANO R J, ROBERTS M, *et al*. Opportunities for lean stability strategies [J]. *J Pharm Innov*, 2014, **9**(3): 259-271.

[4] FDA. Zinecard® dexrazoxane for injection [EB/OL]. [2022-03-28]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2002/20212se7-004,005,006lbl.pdf

[5] KIM I H, LEE J E, YOUN H J, *et al*. Cardioprotective effect of dexrazoxane in patients with HER_2-positive breast cancer who receive anthracycline based adjuvant chemotherapy followed by trastuzumab [J]. *J Breast Cancer*, 2017, **20**(1): 82-90.

[6] 吴宏富, 黄卫平, 刘 放. 兰索拉唑片的稳定性预测[J]. 华西药学杂志, 2014, **29**(3): 331-333.