

## 铂类抗肿瘤药物甲吡铂的水合反应研究

陈宏<sup>1,2</sup>, 栾春芳<sup>2</sup>, 丛艳伟<sup>2</sup>, 张琪<sup>2</sup>, 普绍平<sup>2\*</sup>

(1. 昆明贵金属研究所 稀贵金属综合利用新技术国家重点实验室, 昆明 650106;

2. 昆明贵研药业有限公司 云南省铂族金属抗肿瘤药物工程技术研究中心, 昆明 650106)

**摘要:** 采用高效液相色谱研究了抗肿瘤药物甲吡铂的水合反应, 以及甲吡铂在 0.9% NaCl 溶液中的稳定性。结果表明, 甲吡铂的水合反应遵循一级反应动力学规律, 20℃时反应速率常数为  $k=0.03086 \text{ h}^{-1}$ , 半衰期 22.5 h, 反应活化能  $E=80.6 \text{ kJ/mol}$ ; 在 0.9% NaCl 溶液中, 甲吡铂的水合反应被抑制, 反应达到平衡后, 甲吡铂的降解不超过 4%。

**关键词:** 药物化学; 抗肿瘤药物; 甲吡铂; 水合反应; 一级反应

中图分类号: R979.1, O627.8 文献标识码: A 文章编号: 1004-0676(2014)03-0010-04

### The Study of Aquation of *Picoplatin*, a Platinum-based Anti-tumor Drug

CHEN Hong<sup>1,2</sup>, LUAN Chunfang<sup>2</sup>, CONG Yanwei<sup>2</sup>, ZHANG Qi<sup>2</sup>, PU Shaoping<sup>2\*</sup>

(1. State Key Laboratory Advanced Technologies of Comprehensive Utilization of Platinum Metals, Kunming Institute of Precious

Metals, Kunming 650106, China; 2. Yunnan Engineering and Technology Center of Platinum-based Anti-tumor Drug,

Kunming Guiyan Pharmaceutical Co. Ltd., Kunming 650106, China)

**Abstract:** HPLC analytical method was used to investigate the aquation of picoplatin, and the stability of picoplatin in 0.9% NaCl solution. The results show that the aquation of picoplatin followed the law of the first-order reaction, the rate constant was  $0.03086 \text{ h}^{-1}$ , the half life period was 22.5 h, the activation energy was 80.6 kJ/mol. Picoplatin is stable in 0.9% NaCl solution, the degradation did not exceed 4% when the reaction achieved balance.

**Key words:** medicinal chemistry; platinum-based anti-tumor drug; *picoplatin*; aquation; the first-order reaction

甲吡铂(*Picoplatin*, ZD0473)是一个处于 II/III 期临床研究阶段的新型铂类抗肿瘤药物<sup>[1]</sup>, 配体中 2-甲基吡啶的引入使其具有空间位阻效应, 产生一些不同于顺铂的特性, 如毒副作用主要表现为血液学毒性, 与顺铂交叉耐药小等<sup>[2-3]</sup>。甲吡铂主要用于小细胞肺癌、卵巢癌、前列腺癌和结肠直肠癌的治疗。

甲吡铂在水溶液中非常不稳定, 易发生水合反应而很快降解, 研究甲吡铂水合反应以及其在生理盐水中的稳定性可以为甲吡铂制剂的研制和临床用药提供参考<sup>[4-6]</sup>。本实验从动力学的角度研究了甲吡铂的水合反应, 提出了反应机理, 并观察了甲吡铂

在生理盐水中的稳定性, 有助于了解甲吡铂溶液的特性, 为制剂开发提供指导。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

Waters 1525 高效液相色谱仪(美国 Waters), 电热恒温水浴箱(北京永光明医疗仪器有限公司), 电子天平(AB135-S, 梅特勒-托利多)。甲吡铂(质量分数>99%)由昆明贵研药业有限公司提供, 其它试剂均为分析纯, 实验用水为纯化水。

收稿日期: 2014-02-21

基金项目: 云南省科技厅重点新产品开发计划“抗肿瘤化学 I 类新药甲吡铂注射液的临床前预研究”(2013BC010)。

第一作者: 陈宏, 男, 硕士研究生, 研究方向: 新型铂族金属抗肿瘤药物的研发和分析。E-mail: c.h0924@163.com

\*通讯作者: 普绍平, 男, 博士, 教授, 研究方向: 新型铂族金属抗肿瘤药物的研发。E-mail: pushaoping@163.com

### 1.2 高效液相色谱仪表征

#### 1.2.1 高效液相色谱条件

色谱柱为 C18 (Waters, 250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为 15%乙腈水溶液(预先混合并超声脱气), 流速 1.0 mL/min 等度洗脱, 于 267 nm 处检测, 柱温 30℃, 进样量 20 μL。

#### 1.2.2 起始浓度对甲哌铂水合反应的影响

精确配制  $1.33 \times 10^{-4}$ 、 $2.66 \times 10^{-4}$ 、 $5.32 \times 10^{-4}$  mol/L 3 个浓度的甲哌铂水溶液, 恒温 20℃, 于 0~24 h 内每隔 2 h 进样, 用高效液相色谱测定甲哌铂浓度随时间的变化情况。

#### 1.2.3 温度对甲哌铂水合反应的影响

以纯化水为溶剂, 精确配制浓度为  $2.66 \times 10^{-4}$  mol/L 的甲哌铂溶液共 6 份, 分别置于 20、25、30、35、40 和 45℃ 的电热恒温水浴锅内, 于 0~4 h 内每隔 1 h 进样, 用高效液相色谱测定甲哌铂浓度随时间的变化情况。

#### 1.2.4 甲哌铂在 0.9%NaCl 溶液中的稳定性

以 0.9% NaCl 溶液作溶剂, 精确配制  $1.33 \times 10^{-4}$ 、 $2.66 \times 10^{-4}$ 、 $5.32 \times 10^{-4}$  mol/L 三个浓度的甲哌铂水溶液, 恒温 20℃, 分别于 0、30、60、90 min 以及 2、3、4、5、6 和 24 h 进样, 用高效液相色谱测定甲哌铂浓度随时间的变化情况。

## 2 结果与讨论

### 2.1 起始浓度对甲哌铂水合反应的影响

图 1 显示了 20℃ 条件下, 起始浓度为  $1.33 \times 10^{-4}$ 、 $2.66 \times 10^{-4}$ 、 $5.32 \times 10^{-4}$  mol/L 的甲哌铂水溶液浓度随时间的变化关系。

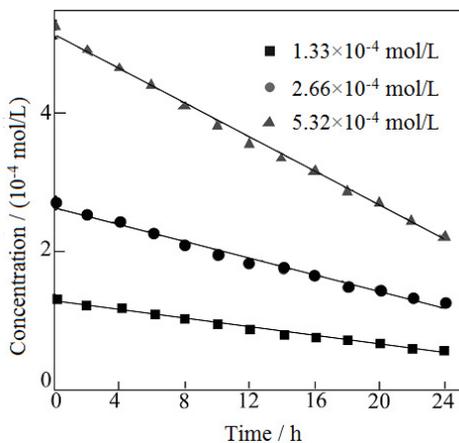


图 1 20℃ 时甲哌铂水溶液浓度与时间的关系

Fig.1 The relationship between the content and the time of picoplatin in water at 20℃

甲哌铂浓度与时间呈线性相关( $R^2 > 0.99$ ), 对应的斜率依次为  $-0.031$ 、 $-0.062$  和  $-0.123$  mol/(L·h)。说明随着时间增加, 溶液中甲哌铂的含量逐渐减少, 在 22 h 左右含量均减少 50%, 24 h 后含量低于 45%; 由斜率与起始浓度的关系可以看出, 随着起始浓度的成倍增加, 甲哌铂降解速率也在成倍增加, 说明甲哌铂的水合反应降解速率与起始浓度线性相关。

### 2.2 温度对甲哌铂水合反应的影响

起始浓度  $2.66 \times 10^{-4}$  mol/L, 温度分别为 20、25、30、35、40、45℃ 时甲哌铂水溶液浓度与时间关系呈线性相关。以  $\lg c_0 - \lg c$  对时间  $t$  作图 ( $c_0$  为起始浓度,  $c$  为  $t$  时刻甲哌铂浓度), 线性拟合的结果如图 2 所示, 所得直线性均较好( $R^2 > 0.998$ ), 即甲哌铂的水合反应降解速率与起始浓度线性相关, 说明甲哌铂的水合反应遵循一级反应动力学规律, 直线斜率的 2.303 倍即为甲哌铂水合反应速率常数  $k$ , 不同温度时的  $k$  值见表 1。

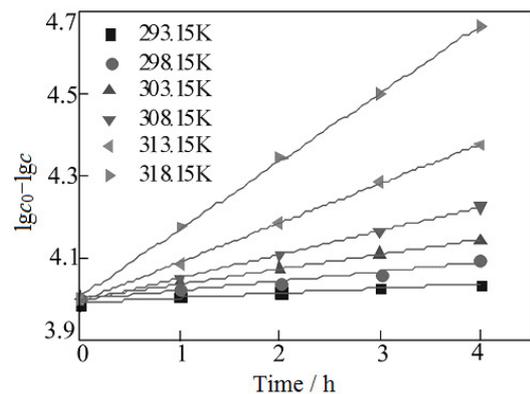


图 2 不同温度时  $\lg c_0 - \lg c$  与时间的关系

Fig.2 The relationship between  $\lg c_0 - \lg c$  and the time of picoplatin at different temperatures

表 1 不同温度时甲哌铂水合反应速率常数  $k$

Tab.1 The reaction rate constant  $k$  of the aquation of picoplatin at different temperatures

温度/K	反应速率常数 $k/(h^{-1})$
293.15	0.03086
298.15	0.04836
303.15	0.08245
308.15	0.13196
313.15	0.21855
318.15	0.37815

### 2.3 甲哌铂的水合反应动力学分析

20℃时,起始浓度为  $2.66 \times 10^{-4}$  mol/L 的甲哌铂水溶液放置 6 h 后的 HPLC 图如图 3 所示。谱图中出现 3 个峰,依次为甲哌铂一水合物(3.52 min)、甲哌铂二水合物(3.99 min)和甲哌铂峰(4.35 min)。

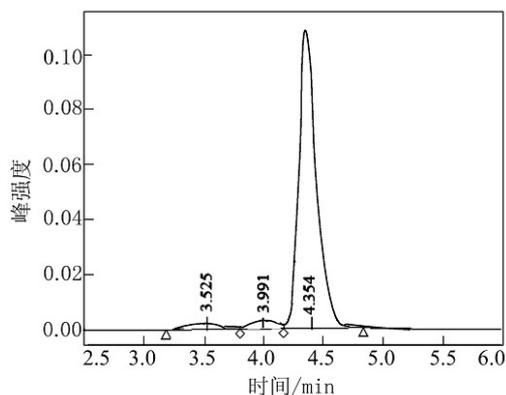


图 3 甲哌铂在纯化水中放置 6 小时后的色谱图

Fig.3 Chromatogram of picoplatin in water for 6 h

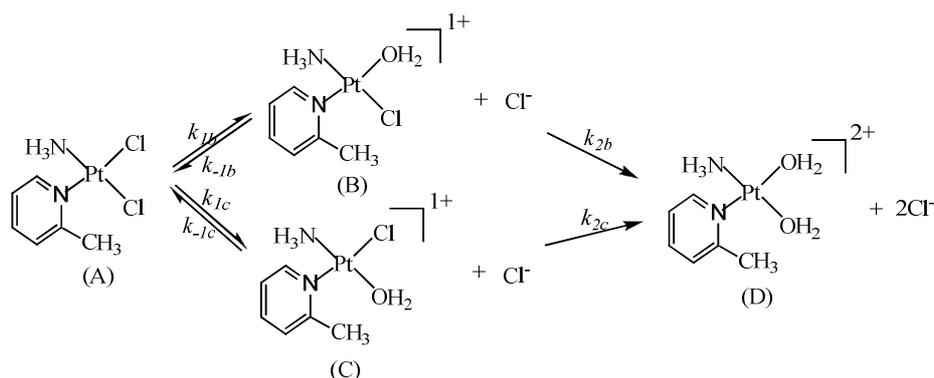


图 4 甲哌铂的水合反应机理

Fig.4 The aquation mechanism of picoplatin

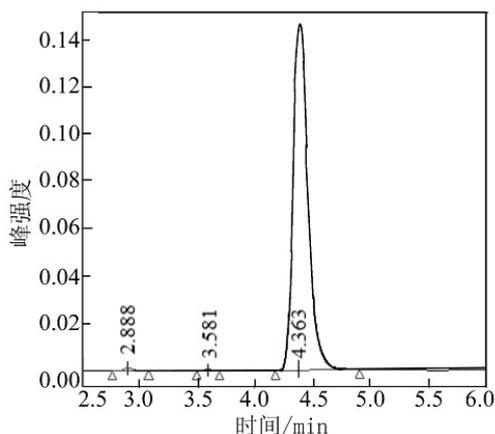


图 5 甲哌铂在 0.9% NaCl 溶液中放置 6 小时后的色谱图

Fig.5 Chromatogram of picoplatin in 0.9% NaCl solution for 6 h

甲哌铂的水合反应遵循一级反应动力学规律,其降解速率与起始浓度的一次方成正比,比例系数即为反应速率常数  $k$ ; 温度越高,甲哌铂降解速率越快; 温度每升高 10℃,反应速率增大 2.7 倍左右; 半衰期为 22.5 h。以温度的倒数( $1/T$ )为横坐标,  $\lg k$  为纵坐标作图拟合得到一条直线, 回归方程为 ( $R^2=0.998$ ):

$$\lg k = -4210.1/T + 12.836 \quad (1)$$

依据 Arrhenius 公式:

$$\lg k = -E/(2.303RT) + \lg A \quad (2)$$

其中,  $E$  为反应活化能;  $R$  是摩尔气体常数, 8.314 J/(mol·K);  $A$  是常数, 称为频率因子。根据直线斜率和截距求得, 甲哌铂水合反应活化能  $E=80.6$  kJ/mol, 频率因子  $A=6.85 \times 10^{12} \text{ h}^{-1}$ 。

甲哌铂的水合反应机理如图 4 所示。

甲哌铂的水合过程发生 2 个平行反应, 第一步生成一水合物, 第二步再生成二水合物, 其中第二步为控速步骤。对中间体 B 或 C 采用稳态近似法处理, 可推导出水合反应速率:

$$r = (k_{1b}k_{2b}/k_{-1b} + k_{1c}k_{2c}/k_{-1c})[A] \quad (3)$$

反应为一级, 与实验结果一致。由图 4 可以看出,  $\text{Cl}^-$  可以抑制甲哌铂水合物的生成, 从而减少甲哌铂的水合降解。

### 2.4 甲哌铂在 0.9% NaCl 溶液中的稳定性

甲哌铂在 0.9% NaCl 溶液放置 6 h 后的 HPLC 图如图 5 所示。谱图中出现 3 个峰, 依次为  $\text{Cl}^-$  峰(2.88 min)、溶剂峰(3.58 min)和甲哌铂峰(4.36 min)。甲哌铂在 0.9% NaCl 溶液中很稳定, 基本检测不到水合产物。

图6为20℃时,起始浓度分别为 $1.33 \times 10^{-4}$ 、 $2.66 \times 10^{-4}$ 、 $5.32 \times 10^{-4}$  mol/L的甲哌铂生理盐水溶液的浓度随时间变化关系。由图6可知,不同浓度的甲哌铂在生理盐水中的水合反应主要发生在前5h,而2h前反应速率最快,之后反应速率减慢,5h后水合反应达到平衡。反应平衡后,不同浓度的甲哌铂溶液含量均在96%~97%之间,而且起始浓度越高,越快达到水解平衡,但是对稳定性影响并不明显。说明Cl<sup>-</sup>可以提高甲哌铂溶液的稳定性,甲哌铂在0.9%NaCl溶液中水解不超过4%。

综上所述,甲哌铂在0.9%NaCl溶液中发生图7所示的水解平衡。

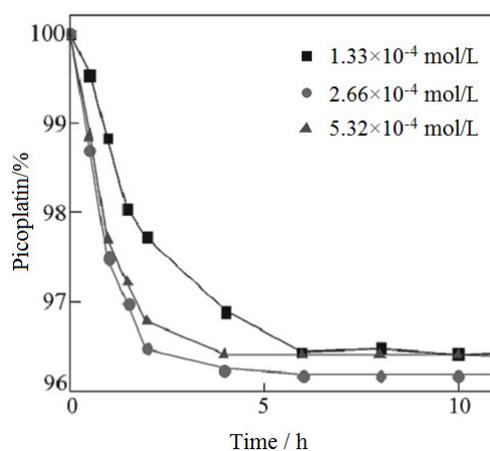


图6 20℃时甲哌铂-0.9% NaCl 溶液浓度随时间变化关系  
Fig.6 The relationship between the content and the time of picoplatin in 0.9% NaCl solution at 20℃

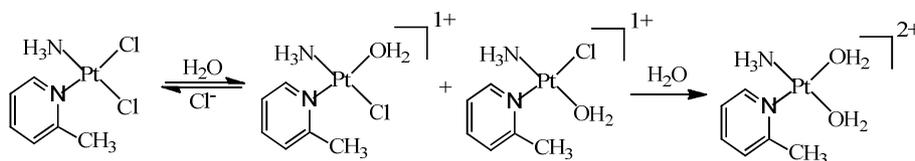


图7 甲哌铂在0.9% NaCl 溶液中的化学行为

Fig.7 The reaction of picoplatin in 0.9% NaCl solution

### 3 结论

甲哌铂在水溶液中非常不稳定,Cl<sup>-</sup>离子作为离去基团容易被水分子取代发生水合反应,遵循一级反应动力学规律,反应速率与甲哌铂初始浓度成正比,反应速率 $r = (k_{1b}k_{2b}/k_{-1b} + k_{1c}k_{2c}/k_{-1c})[A]$ 。20℃时反应速率常数为 $0.03086 \text{ h}^{-1}$ ,半衰期22.5 h,反应活化能为80.6 kJ/mol,温度每升高10℃,反应速率加快2.7倍。Cl<sup>-</sup>可以提高甲哌铂溶液的稳定性,甲哌铂在0.9%NaCl溶液中降解不超过4%。

#### 参考文献:

- [1] 普绍平, 丛艳伟, 王庆琨, 等. 甲哌铂的合成、表征、理化性质与晶体结构[J]. 中国新药杂志, 2010, 19(17): 1605-1608.  
Pu S, Cong Y, Wang Q, et al. Synthesis, characterization, crystal structure and physicochemical properties of picoplatin[J]. Chinese J New Drugs, 2010, 19(17): 1605-1608.
- [2] 王庆琨, 普绍平, 何键, 等. 抗肿瘤新药甲哌铂的合成

工艺研究[J]. 贵金属, 2013, 34(4): 37-39.

Wang Q, Pu S, He J, et al. A new synthetic method of picoplatin, an antitumor drug[J]. Precious Metals, 2013, 34(4): 37-39.

- [3] Komeda S, Casini A. Next-generation anticancer metallo-drugs[J]. Curr Top Med Chem, 2012, 12(3): 219-235.
- [4] Potucká L, Housková J, Syslová K, et al. HPLC method for the determination of the purity of K[Pt(NH<sub>3</sub>)Cl<sub>3</sub>], a precursor of the platinum complexes with cytostatic activity[J]. Anal Lett, 2011, 44(12): 2182-2193.
- [5] 高文桂, 普绍平, 刘伟平, 等. 奥沙利铂的水合反应及其酸度的影响[J]. 药学学报, 2003, 38(3): 223-226.  
Gao W, Pu S, Liu W, et al. The aquation of oxaliplatin and the effect of acid[J]. Acta Pharm Sin, 2003, 38(3): 223-226.
- [6] 高文桂, 普绍平, 刘伟平, 等. 草酸铂与Cl<sup>-</sup>的取代反应动力学[J]. 无机化学学报, 2002, 7(18): 679-682.  
Gao W, Pu S, Liu W, et al. Kinetics of the substitution reactions of oxaliplatin and Cl<sup>-</sup>[J]. Chinese J Inorg Chem, 2002, 7(18): 679-682.