

铂类抗肿瘤药物甲铂铂破坏性试验研究

陈 宏^{1,2}, 栾春芳², 丛艳伟², 张 琪², 普绍平^{2*}

(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: 根据药品稳定性试验的要求, 采用高效液相色谱分析方法研究甲铂铂在酸、碱、氧化和还原条件下的稳定性, 并研究了不同 pH 值对甲铂铂稳定性的影响, 所有溶剂均用 0.9% NaCl 溶液配制。研究表明, 甲铂铂在 0.01 mol/L HCl 溶液中放置 24 h 含量降解约 7%; 在 0.01 mol/L NaOH 溶液中放置 24 h 含量降解约 78%; 在 0.3% H₂O₂ 溶液中放置 24 h 含量降解约 49%; 在 0.01% NaHSO₃ 溶液中放置 24 h 含量降解约 9%; pH 太高或者太低均不利于甲铂铂的稳定, 最稳定的 pH 在 3~5 之间。结果说明, 甲铂铂在碱性和氧化性环境中极不稳定, 在还原性和酸性环境中相对稳定, 但还原剂和酸的加入量需严格控制。

关键词: 药物化学; 铂抗癌药; 甲铂铂; 破坏试验; 稳定性; 高效液相色谱

中图分类号: R979.1, O627.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0676(2015)01-0041-05

The Research of Devastating Test on Picoplatin, a Platinum-based Anti-tumor Drug

CHEN Hong^{1,2}, LUAN Chunfang², CONG Yanwei², ZHANG Qi², PU Shaoping^{2*}

(1. State Key Laboratory of Advanced Technologies for 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: Based on the requirement of the drug-stability test, HPLC analytical method was used to investigate the stability of picoplatin in acid, alkaline, oxidative and reductive conditions, and 0.9% NaCl solution was used as solvent. The results show that in 0.01% HCl solution 24 hours, picoplatin degraded about 7%, 78% in 0.01%NaOH solution, 49% in 0.3% H₂O₂ solution and 9% in 0.01% NaHSO₃ solution 24 hours. It's not conducive to the stability of picoplatin if the pH value is too high or too low, and the most stable pH values is between 3 and 5. It shows that, picoplation is unstable in alkaline and oxidative conditions, and is stable in acid and reductive conditions relatively, but the amount of acid and reducing agent should be controlled strictly.

Key words: medicinal chemistry; platinum-based anti-tumor drug; picoplatin; devastating test; stability; HPLC

甲铂铂(ZD0473, Picoplatin)是继顺铂、卡铂和奥沙利铂之后的新一代铂类抗肿瘤药物, 目前处于临床 II/III 期研究阶段^[1]。甲铂铂主要用于小细胞肺癌、卵巢癌、结直肠癌和前列腺癌的治疗, 有望成

为治疗肿瘤的有效药物^[2-4]。依据欧美国 DMF 文件及国内药品注册材料的相关要求, 酸、碱、氧化和还原性破坏试验是申报材料的主要内容之一^[5], 本文就该内容进行了研究。甲铂铂在水溶液环境中

收稿日期: 2014-06-04

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

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, 正高级工程师, 研究方向: 新型铂族金属抗肿瘤药物的研发。E-mail: pushaoping@163.com

易发生水合反应而发生降解, 前期研究表明^[6], 20℃时, 甲萘铂在纯化水中的半衰期只有 22.5 h, 而在 0.9% NaCl 溶液中水解达到平衡后只有 4%降解, 为了避免甲萘铂水合反应对破坏试验结果产生较大影响, 本实验采用 0.9% NaCl 溶液作为基本溶剂, 在其中添加酸、碱、氧化剂和还原剂后进行破坏性试验研究。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Waters 1525 高效液相色谱仪(美国); 电子天平(AB135-S, 瑞士)。甲萘铂(含量大于 99%, 昆明贵研药业有限公司); 氯化钠、氢氧化钠、亚硫酸氢钠、30%过氧化氢(分析纯, 天津市风船化学试剂科技有限公司); 盐酸(分析纯, 西陇化工股份有限公司)其余试剂均为色谱纯。

1.2 实验方法

1.2.1 空白溶剂配制

在 0.9% NaCl 溶液中分别加入一定量的 HCl、NaOH、30% H₂O₂ 或 NaHSO₃, 配制成含 0.01 mol/L

HCl、0.01 mol/L NaOH、0.3% H₂O₂ 和 0.01% NaHSO₃ 的空白溶液, 以 0.9% NaCl 溶液作对照, 采用高效液相色谱测定不同空白溶液的色谱图, 确定溶剂峰的保留时间。

1.2.2 破坏性试验研究

将 3 个批号的甲萘铂分别溶于 0.01 mol/L HCl、0.01 mol/L NaOH、0.3% H₂O₂ 和 0.01% NaHSO₃ 溶液中, 浓度为 0.1 mg/mL, 分别于 0、20、40、60、80、100 min 以及 2、3、4、5、6 和 24 h 取样进行高效液相色谱分析。试验均在室温下进行。

1.2.3 pH 值对甲萘铂稳定性的影响

以 pH=2、3、4、5 和不调节 pH 的 0.9% NaCl 溶液作为溶剂, 配制浓度为 0.1 mg/mL 的甲萘铂溶液, 分别于 0、1、2、3、4、5、6 和 24 h 取样进行高效液相色谱分析。

2 结果与讨论

2.1 甲萘铂的酸破坏试验

甲萘铂在 0.01 mol/L HCl 溶液中不同时刻的含量见表 1。

表 1 甲萘铂在 0.01mol/L HCl 溶液中不同时刻的含量

批号	0 min	20 min	40 min	60 min	80 min	100 min	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	24 h
20130703	95.01	94.27	93.82	93.54	93.49	93.46	93.40	93.32	93.28	93.26	93.25	93.22
20130707	95.62	94.78	94.32	94.01	93.69	93.52	93.47	93.38	93.33	93.26	93.23	92.96
20130708	96.31	95.70	95.16	94.56	93.75	93.59	93.52	93.42	93.37	93.31	93.27	93.25

表 1 结果表明, 甲萘铂在 0.01 mol/L HCl 溶液中刚好完全溶解时, 含量已经下降 3%~5%, 之后降解比较缓慢, 约 1 h 后降解趋于平衡, 直至 24 h, 甲萘铂降解量在 7%左右。

2.2 甲萘铂的碱破坏试验

甲萘铂在 0.01 mol/L NaOH 溶液中不同时刻的含量见表 2。

表 2 甲萘铂在 0.01 mol/L NaOH 溶液中不同时刻的含量

批号	0 min	20 min	40 min	60 min	80 min	100 min	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	24 h
20130703	98.38	96.61	94.61	92.99	91.39	89.55	87.83	85.94	81.82	96.51	71.87	21.44
20130707	98.79	96.89	94.75	93.10	91.48	89.67	87.92	85.99	81.93	96.57	71.92	22.03
20130708	98.46	96.72	94.64	93.02	91.41	89.62	87.90	85.97	81.85	96.53	71.90	21.65

表 2 结果表明, 甲萘铂在 0.01 mol/L NaOH 溶液中完全溶解时含量下降 2%左右, 之后随时间延长逐渐降解, 6 h 降解约 28%, 到 24 h 降解约 78%。

2.3 甲萘铂的氧化破坏试验

甲萘铂在 0.3% H₂O₂ 溶液中不同时刻的含量见表 3。

表 3 甲哌铂在 0.3% H₂O₂ 溶液中不同时刻的含量

Tab.3 Contents of picoplatin in 0.3% H ₂ O ₂ solution at different time												/%
批号	0 min	20 min	40 min	60 min	80 min	100 min	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	24 h
20130703	97.09	95.60	94.55	93.48	92.54	91.63	90.73	87.99	85.39	82.71	80.19	50.80
20130707	97.19	95.68	94.59	93.52	92.60	91.67	90.74	88.09	85.46	82.77	80.21	51.03
20130708	97.06	95.57	94.49	93.41	92.51	91.53	90.69	87.98	85.31	82.68	80.07	50.92

表 3 结果表明，甲哌铂在 0.3% H₂O₂ 溶液中完全溶解时含量降低约 3%，6 h 后降解约 19%，24 h 后降解约 49%。

2.4 甲哌铂的还原破坏试验

甲哌铂在 0.01% NaHSO₃ 溶液中不同时刻的含量见表 4。

表 4 甲哌铂在 0.01% NaHSO₃ 溶液中不同时刻的含量

Tab.4 Contents of picoplatin in 0.01% NaHSO ₃ solution at different time												/%
批号	0 min	20 min	40 min	60 min	80 min	100 min	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	24 h
20130703	97.57	96.12	95.92	95.44	95.13	94.91	94.74	94.10	93.46	92.96	92.37	90.90
20130707	97.68	96.23	96.13	95.47	95.15	95.03	94.75	94.12	93.52	92.98	92.36	91.02
20130708	98.01	96.38	96.25	95.61	95.32	95.12	94.81	94.23	93.51	92.87	92.41	91.13

表 4 结果表明，甲哌铂在 0.01% NaHSO₃ 溶液中完全溶解时含量降低约 2%，之后含量随时间缓慢降低，到 6 h 降解约 8%，24 h 降解约 9%。

2.5 不同 pH 值对甲哌铂稳定性的影响

甲哌铂在不同 pH 值的 0.9% NaCl 溶液中的含量与时间关系见表 5。

表 5 甲哌铂在不同 pH 值的 0.9%NaCl 溶液中的含量

Tab.5 Contents of picoplatin in 0.9%NaCl solution with different pH values at different time								/%
pH	0 h	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	24 h
2	95.01	93.54	93.66	93.99	94.34	94.13	94.15	94.22
3	97.40	96.48	96.12	96.41	96.02	96.31	96.22	96.41
4	97.35	96.11	96.08	96.01	96.16	95.81	96.17	96.27
5	97.33	96.13	96.02	96.23	96.33	96.21	96.25	96.24
不调节(5.7)	97.42	96.71	96.66	96.48	96.32	96.28	96.23	96.23

由表 5 可知，甲哌铂在盐酸氯化钠溶液中的降解主要发生在 1 h 前，1~6 h 趋于平衡并略有回升。甲哌铂的稳定性与 pH 值呈倒“V”形关系，酸性太强会对甲哌铂造成破坏，适当的酸度有助于提高甲哌铂的稳定性。本试验条件下，甲哌铂溶液稳定的 pH 范围在 3~5 之间。

2.6 讨论

2.6.1 甲哌铂在酸溶液中的化学行为

甲哌铂在 0.01 mol/L HCl 溶液中放置 6 h 的 HPLC 图谱如图 1 所示。图 1 中出现 3 个峰，*t*₁ (2.892 min)为三氯氨络铂酸盐，与 0.9% NaCl 溶剂峰部分重叠，拖尾部分为加入高浓度盐酸后的溶剂峰，*t*₂ (3.789 min)为 0.9% NaCl 溶剂峰，*t*₃ (4.385 min)为甲

哌铂峰。

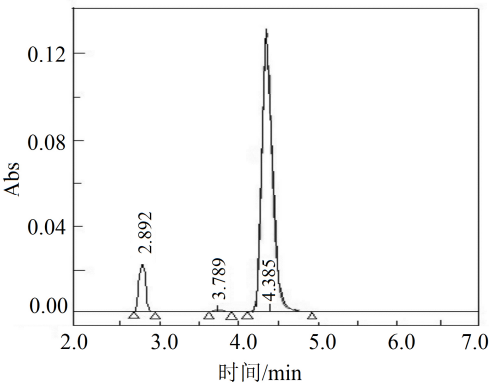
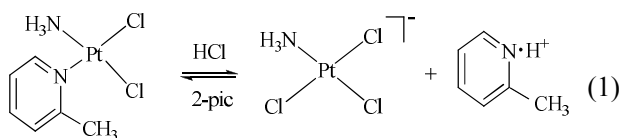


图 1 甲哌铂在酸性环境中放置 6 h 的色谱图

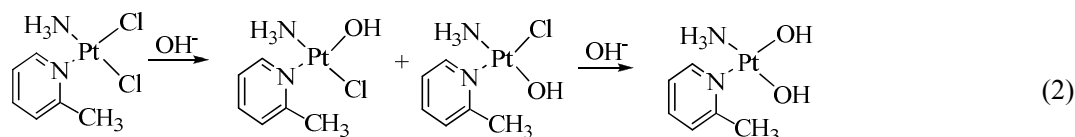
Fig.1 Chromatogram of picoplatin in acid condition for 6 h

依据 2 价铂配合物的性质, 甲哌铂在水溶液中易发生水合反应, 加入氯化钠和一定量的盐酸可以抑制水合反应的发生, 但如果盐酸过量, 在 H^+ 离子的作用下, Cl^- 离子将取代 2-甲基吡啶生成三氯氨络铂酸盐 $Pt[(NH_3)Cl_3]^-$ 。发生的反应为:



2.6.2 甲哌铂在碱溶液中的化学行为

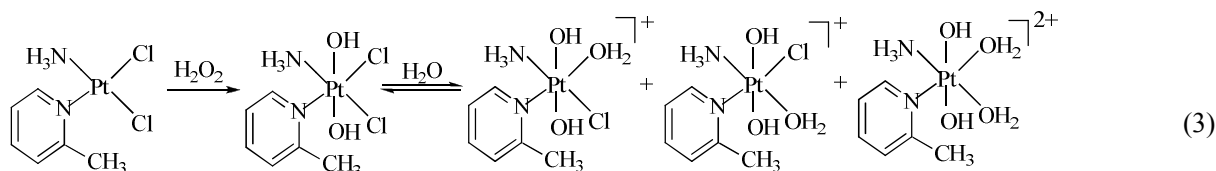
甲哌铂在 0.01 mol/L NaOH 溶液中放置 6 h 的 HPLC 图谱如图 2 所示。图 2 中出现 5 个峰, t_1 (2.860 min) 和 t_2 (3.562 min) 为溶剂峰, t_3 (4.241 min) 为甲哌铂峰, t_4 (5.033 min) 和 t_5 (5.809 min) 分别为氢氧根的二取代物和一取代物。



2.6.3 甲哌铂在氧化性溶液中的化学行为

甲哌铂在 0.3% H_2O_2 溶液中放置 6 h 的 HPLC 图谱如图 3 所示。图 3 中出现 4 个峰, t_1 (2.954 min) 为甲哌铂 $Pt(IV)$ 氧化物峰, t_2 (3.173 min) 为甲哌铂 $Pt(IV)$ 水合物峰, t_3 (3.800 min) 为溶剂峰, t_4 (4.244 min) 为甲哌铂峰。

依据铂配合物的一般性质, H_2O_2 可以将平面四配位的 $Pt(II)$ 配合物氧化为 4 价铂配合物, 氧化过程中水合反应也在进行, 发生的反应见式(3):



2.6.4 甲哌铂在还原性溶液中的化学行为

甲哌铂在 0.01% $NaHSO_3$ 溶液中放置 6 h 的 HPLC 图谱如图 4 所示。图 4 中出现 3 个峰, t_1 (2.901

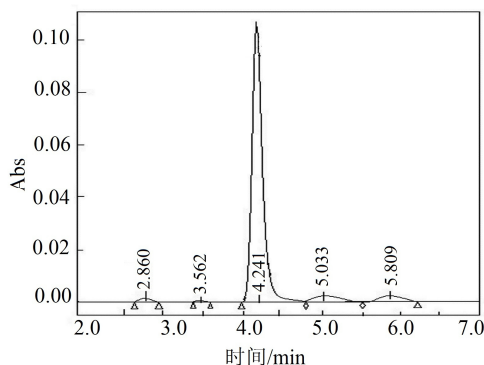


图 2 甲哌铂在碱性环境中放置 6 h 的色谱图

Fig.2 Chromatogram of picoplatin in alkaline condition for 6 h

OH^- 能够取代 Cl^- , 取代产物峰随着时间的延长而逐渐增大, 并且保留时间有延长的趋势。甲哌铂在含氢氧化钠的生理盐水溶液中发生的反应为:

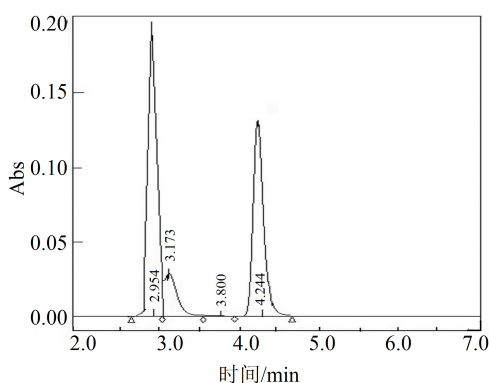


图 3 甲哌铂在氧化性环境中放置 6 h 色谱图

Fig.3 Chromatogram of picoplatin in oxidative condition for 6 h

min) 和 t_2 (3.559 min) 为溶剂峰, t_3 (4.242 min) 为甲哌铂峰, 未检测到降解产物峰, 可能是由于紫外吸光度小或者含量少等原因造成的。

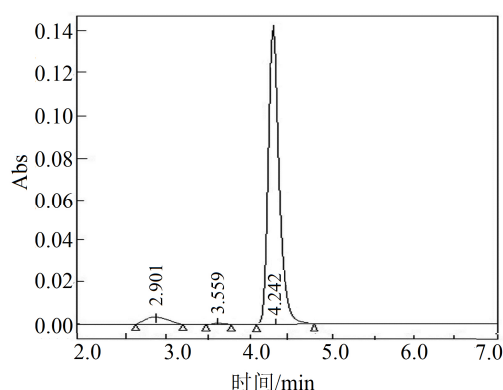
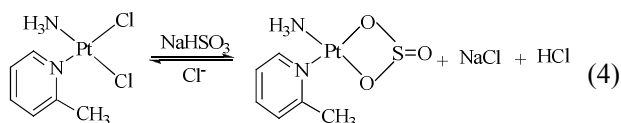


图 4 甲哌铂在还原性环境中放置 6 h 色谱图

Fig.4 Chromatogram of picoplatin in reductive condition for 6 h

NaHSO_3 具有还原性和一定的酸性, 适量的 NaHSO_3 可以作为抗氧化剂, 如果过量反而可能将铂单质还原出来。此外, 亚硫酸根中的氧原子易与铂发生配位, 取代氯离子生成新的配合物, 反应过程中生成了 NaCl 和 HCl 导致 t_1 溶剂峰变大, 发生的反应为:



3 结论

(1) 甲哌铂在碱性和氧化性环境中极不稳定, 在还原性和酸性环境中相对稳定, 但还原剂和酸的加入量需严格控制。

(2) 以生理盐水作为基本溶剂时, 甲哌铂在 0.01 mol/L HCl 溶液中放置 24 h 含量降解约 7%; 在 0.01 mol/L NaOH 溶液中反应剧烈, 放置 24 h 含量降解约 78%; 在 0.3% H_2O_2 溶液中容易被氧化, 放置 24 h 含量降解约 49%; 在 0.01% NaHSO_3 溶液中放置 24 h 含量降解约 9%。

(3) pH 太高或者太低均不利于甲哌铂的稳定。pH 太高, 甲哌铂易与碱发生反应, pH 太低则会产生一定的酸破坏, 最稳定 pH 在 3~5 之间。

(4) 甲哌铂正处于临床试验中, 有注射剂和口服剂型, 研究不同化学环境对甲哌铂的破坏性对指导其制剂开发和应用具有重大意义。在制剂开发过程中宜采用 pH 为 3~5 的盐酸氯化钠溶液作注射液溶剂, 所有剂型均要避免碱性和氧化性物质的加入。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] Bentzion D, Lipatov O, Polyakov I, et al. A phase II study of picoplatin (pico) as second-line therapy for patients (pts) with small cell lung cancer (SCLC) who have resistant or refractory disease or have relapsed within 180 days of completing first-line, platinum (plat)-containing chemotherapy[J]. J Clin Oncol, 2007, 25(18s): 7722-7722.
- [3] Ciuleanu T, Samarzjia M, Demidchik Y, et al. Randomized phase III study (SPEAR) of picoplatin plus best supportive care (BSC) or BSC alone in patients (pts) with SCLC refractory or progressive within 6 months after first-line platinum-based chemotherapy[J]. J Clin Oncol, 2010, 28(15s): 7002-7002.
- [4] Komeda S, Casini A. Next-generation anticancer metallodrugs[J]. Curr Top Med Chem, 2012, 12(3): 219-235.
- [5] 栾春芳, 刘祝东, 普绍平, 等. 铂抗癌药物顺铂破坏性试验的研究[J]. 贵金属, 2007, 28(s1): 56-61.
Luan C, Liu Z, Pu S, et al. The research of devastating test on cisplatin, a platinum-based anticancer drug[J]. Precious Metals, 2007, 28(S1): 56-61.
- [6] 陈宏, 栾春芳, 丛艳伟, 等. 铂类抗肿瘤药物甲哌铂的水合反应研究[J]. 贵金属, 2014, 35(3): 10-13.
Chen H, Luan C, Cong Y, et al. The study of aqation of picoplatin, a platinum-based anti-tumor drug[J]. Precious Metals, 2014, 35(3): 10-13.