

微波消解-ICP-MS 法测定舒尼铂原料药中银的残留量

张晓南¹, 普冰清¹, 陈雪江¹, 徐红贵¹, 王京昆¹, 刘伟平², 杨晓燕^{1*}

(1. 云南省药物研究所 云南省中药和民族药新药创制企业重点实验室, 云南白药集团创新研发中心, 昆明 650111;
2. 昆明贵金属研究所, 昆明 650106)

摘要: 采用微波消解法进行样品前处理, 以电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)测定了舒尼铂原料药中的银残留量。结果表明, 银质量浓度在 0.1~150 $\mu\text{g/L}$ 的范围内, 与银信号强度和内标铟信号强度的比值呈良好的线性关系, 重复性试验的 *RSD* 为 2.32%, 加标回收率为 95.89%~104.81%, 检出限为 0.0109 $\mu\text{g/g}$, 定量限为 0.0365 $\mu\text{g/g}$; 3 批样品测定结果分别为 2.42、1.54 和 1.96 $\mu\text{g/g}$ 。方法可满足舒尼铂原料药中银残留量测定的要求。

关键词: 分析化学; 抗癌药; 舒尼铂; 银残留量; 微波消解; 电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)

中图分类号: R917; O6576.63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0676(2020)02-0062-04

Determination of Residual Silver Content in Shuniplatin API by Microwave Digestion-ICP-MS

ZHANG Xiao-nan¹, PU Bing-qing¹, CHEN Xue-jiang¹, XU Hong-gui¹,
WANG Jing-kun¹, LIU Wei-ping², YANG Xiao-yan^{1*}

(1. Yunnan Institute of Materia Medica, Yunnan Province Company Key Laboratory for TCM and Ethnic
Drug of New Drug Creation, Yunnan Baiyao Group Innovation and R&D Center, Kunming 650111, China;
2. Kunming Institute of Precious Metals, Kunming 650106, China)

Abstract: The content of residual silver in Shuniplatin active pharmaceutical ingredients(Shuniplatin API) was determined by ICP-MS after sample digested by closed-vessel microwave system. The results indicated that the ratio of the signal intensity of silver to the internal indium standard showed a good linear relationship in the concentration ranges of 0.1~150 $\mu\text{g/L}$. The relative standard deviation was 2.32%, and the recovery of silver was 95.89%~104.81%. The limit of detection was 0.0109 $\mu\text{g/g}$, while the limit of quantitation was 0.0365 $\mu\text{g/g}$. The determined silver content in three batches of samples was 2.42, 1.54 and 1.96 $\mu\text{g/g}$, respectively. It suggests that the method can meet the requirements of silver residue determination in Shuniplatin API.

Key words: analytical chemistry; anti-cancer drug; Shuniplatin; silver residue; microwave digestion; ICP-MS

含铂类药物的联合化疗一直是治疗胃癌的首选方案, 近年来, 分子靶向疗法在癌症的治疗中取得了极大的成功, 但是靶向疗法的疗效因人而异, 特别是胃癌, 对靶向疗法不敏感, 被喻为分子靶向治疗的“盲区”。同时, 靶向治疗通常与化疗联用有协同抗癌效应, 因此, 以铂类药物为主或参与联合化

疗的方案仍是临床治疗晚期胃癌和预防胃癌手术后复发的重要方法。但铂类抗癌药普遍存在肝肾毒性高, 骨髓抑制毒性大, 很多老年患者不能耐受, 以及交叉耐用性等问题。因此, 研制毒性小、对胃癌有较高疗效的新型铂类抗癌药物仍具有重要社会意义和经济价值^[1-3]。

收稿日期: 2020-04-21

基金项目: 国家重大新药创制专项(2009ZX09103-109); 云南省新药开发专项(2014BC010)

第一作者: 张晓南, 女, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 药品质量控制。E-mail: xiaonan1242@126.com

*通讯作者: 杨晓燕, 女, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 分析检测和技术管理。E-mail: wangzhiqi110207@126.com

舒尼铂是昆明贵金属研究所和中科院上海药物研究所发明、由云南白药集团开发的一种新型铂类抗癌候选药物^[4-7]。该药以改善铂类抗癌药的肝肾毒性和骨髓抑制毒性为目的，达到提高患者的生活质量，延长生存期的最终目标。舒尼铂是由对卡铂(Carboplatin)和舒铂(Heptaplatin)的化学结构组合修饰而得，其疗效与卡铂和舒铂相当，但毒副作用小。该药目前已完成了临床前的研发，进入临床试验申报阶段。在舒尼铂的合成过程中使用了银化合物作为催化剂。原料药中对银残留量的控制是其质量控制中重要的一环。本文采用密闭微波消解-电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)测定舒尼铂原料药中的银含量，以期舒尼铂和同类的铂类抗癌药的新药研发提供符合药品品质管理^[8]的要求。

1 实验

1.1 仪器与试剂

电感耦合等离子质谱仪(ICP-MS, 美国安捷伦公司 7700X 型); 微波消解系统(德国 Berghof 公司 Speedwave 4); 电子天平(瑞典 Mettler Toledo 公司 AG285); 超纯水发生器(美国密理博公司 Milli-Q)。

银标准液(1000 $\mu\text{g/mL}$)，国家有色金属及电子材料分析测试中心，批号：195029-1。铟内标溶液(100 $\mu\text{g/mL}$)，Agilent Technologies，批号：5188-6525。硝酸(优级纯)。

供试品：舒尼铂原料药，由本实验室合成，批号：SNB-01、SNB-02 和 SNB-03。

1.2 样品的微波消解处理

准确称取样品 0.10 g(精确至 0.1 mg)，置于聚四氟乙烯消解罐内，加硝酸 8 mL，混匀。盖好内盖，旋紧外盖，浸泡至少 2 h 后，将消解罐置于微波消解仪内，以 1600 W 功率，按表 1 程序消解。

消解完成后，将药液转移至 50 mL 容量瓶中。用少量超纯水洗涤消解罐 3 次，合并洗液，用水稀释至刻度定容，摇匀，得到待测试液。消解所得溶液应无色透明，无肉眼可见异物。同法制备样品空白溶液。

表 1 微波消解程序

Tab.1 Procedure of microwave digestion

温度/ $^{\circ}\text{C}$	120	150	50
升温时间/min	20	5	10
保持时间/min	15	10	30

1.3 ICP-MS 测定

1.3.1 仪器工作条件

射频功率：1600 W；等离子体气体流量：15 L/min；辅助气流量：1.0 L/min；载气流量 1.05 L/min；雾化器温度：2 $^{\circ}\text{C}$ ；采集模式：质谱图；峰型：3 个点；积分时间：0.3~0.9 s。

1.3.2 标准溶液制备

1) 标准系列溶液。将 1000 $\mu\text{g/mL}$ 的银标准品液，用 5%硝酸溶液稀释配制制成含银 1500 $\mu\text{g/L}$ 标准储备溶液。将标准储备溶液用 5%硝酸稀释配制银质量浓度分别为 25、60、90、120 和 150 $\mu\text{g/L}$ 的标准系列溶液，本液应临用新配。

2) 内标溶液。将铟内标标准溶液用 5%稀释成含铟约 1 $\mu\text{g/mL}$ 的混合溶液。内标溶液浓度无需精确，临用现配。

1.3.3 测定

1) 工作曲线制作。测定时选取银的同位素为 ^{107}Ag ；以 ^{115}In 作为内标。仪器的内标进样管在仪器分析工作过程中始终插入内标溶液中。依次将仪器的样品管插入各个浓度的标准系列溶液中进行测定，浓度依次递增，以待测元素计数值与内标元素计数值的比率值(3 次读数的平均值)为纵坐标，浓度为横坐标，制作标准曲线^[9-11]。

2) 试液测定和结果计算。将仪器的样品管插入供试品溶液中测定，取 3 次读数的平均值。由仪器代入标准曲线中计算得到相应的试液中银浓度。在同样的分析条件下进行空白试验，扣除空白干扰。根据试液中银浓度及体积得到试液中银的质量，结合称样量计算出样品中银含量。

2 结果与讨论

2.1 工作曲线

取标准溶液测定，以银元素浓度为横坐标，银元素计数值和对内标元素计数值的比值为纵坐标，绘制曲线。结果表明银元素在 0.1~150 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性关系良好，标准曲线为：

$$y=0.001188x+0.0407, \text{ 相关系数 } r>0.9999.$$

2.2 检测限与定量限测定

制备样品空白溶液平行 11 份，按 1.3.1 的仪器工作条件进行测定，计算 11 份样品空白溶液中银元素响应值的标准偏差 σ 。以 3.3σ 除以标准曲线斜率为检出限， 10σ 除以标准曲线斜率为定量限^[9]。

根据测定结果，银元素检出限为 0.0219 $\mu\text{g/L}$ ，

定量限为 0.0730 $\mu\text{g/L}$ 。按取样品 0.1 g, 定容至 50 mL 计, 检出限为 0.0109 $\mu\text{g/g}$, 定量限为 0.0365 $\mu\text{g/g}$, 可以满足药品检测要求。

2.3 重复性实验

称取供试品(批号 SNB-01) 6 份, 每份约 0.1 g(精确至 0.1 mg)。按本法消解测定。计算得银平均含量为 2.42 $\mu\text{g/g}$, $RSD=2.32\%$ ($n=6$), 表明本法具有良好的重复性。

2.4 加标回收率

称取供试品(批号 SNB-01) 6 份, 每份约 0.1 g(精确至 0.1 mg)。以银标准溶液形式向样品中加入银 0.25 μg (与样品中银量相当)。将试样按本法消解测定, 计算加入银的回收率。最终得到银的加标回收率为 95.89%~104.81%, 相对标准偏差(RSD)为 8.43%($n=6$), 符合规定^[8]。

2.5 银稳定性实验

称取供试品(批号 SNB-01) 6 份, 每份约 0.1 g(精确至 0.1 mg)。其中 2 份于测定前 2 天消解, 密封后冷藏保存; 2 份于测定前 1 天消解, 密封后冷藏保存; 2 份测定当天消解。6 份样品同时采用本法测定, 比较放置后银元素稳定性。最终得到银平均含量为 2.43 $\mu\text{g/g}$, RSD 为 4.40%。表明 72 h 内, 银在溶液中的稳定性符合测定的要求。

2.6 实际样品测定评价

按本法测定了 3 批样品(批号: SNB-01、SNB-02 和 SNB-03)。测定原料药中残留银含量分别为 2.42、1.54 和 1.96 $\mu\text{g/g}$ 。

《中国药典》2015 年版^[8]尚未对银残留做出限量规定, 在注射剂中只是对铅、镉、砷、汞和铜 5 种重金属进行了限定; ICH Q3D 元素杂质指南^[12]规定, 银的安全风险等级为 2B 级, 注射用制剂中银的 PDE 标准(每日允许暴露量)为 10 $\mu\text{g/d}$; 美国药典通则 USP<232>^[13]则规定银不是需控制的杂质元素。舒尼铂预计的最高临床用量为 0.1 g/d, 因此按最严格的 ICH Q3D 规定, 舒尼铂原料药的银含量最高限度应为 100 $\mu\text{g/g}$ 。本实验的 3 批舒尼铂原料药中的银含量分别为 2.21、3.61、1.78 $\mu\text{g/g}$, 远低于控制水平, 表明舒尼铂原料药生产工艺中的银残留量控制是成功的。

3 结论

本文采用微波消解-ICP-MS 法测定舒尼铂原料药中残留银含量, 样品消耗量低, 灵敏度高, 操作

简便。样品中银的检出限为 0.0109 $\mu\text{g/g}$, 加标回收率为 95.89%~104.81%, 相对标准偏差 $RSD=2.32\%$ ($n=6$), 放置 72 h 后银含量无变化。测定结果证实舒尼铂原料药中残留银含量控制优于药品质量控制的要求。这一方法可满足银杂质残留量测定的要求, 可作为标准方法, 为其它类似药物中的杂质金属残留量测定提供参考。

参考文献:

- [1] WILSON J J, LIPPARD S J. Synthetic methods for the preparation of platinum anticancer complexes[J]. Chemical reviews, 2014, 114: 4470-4495.
- [2] JOHNSTONE T C, SUNTHARALINGAM K, LIPPARD S J. The next generation of platinum drugs: targeted Pt(II) agents, nanoparticle delivery, and Pt(IV) prodrugs[J]. Chemical reviews, 2016, 116: 3436-3486.
- [3] HAN X P, SUN J, WANG Y J, et al. Recent advances in platinum(IV) complex-based delivery systems to improve platinum(II) anticancer therapy[J]. Medicinal research reviews, 2015, 35(6): 1268-1299.
- [4] LIU W P, CHEN X Z, YE Q S, et al. A novel water-soluble heptaplatin analogue with improved antitumor activity and reduced toxicity[J]. Inorganic chemistry, 2011, 50: 5324-5326.
- [5] LIU W P, JIANG J, XIE C Y, et al. Synthesis, anticancer activity and toxicity of a water-soluble 4S,5S-derivative of heptaplatin, cis-[Pt(II){[(4S,5S)-4,5-bis(aminomethyl)-2-isopropyl-1,3-dioxolane]-(3-hydroxyl-cyclobutane-1,1-dicarboxylate)}₂][J]. Journal of inorganic biochemistry, 2014, 140: 126-130.
- [6] 姜婧, 楼丽广, 谌喜珠, 等. 两种新型水溶性庚铂衍生物的合成和抗癌活性研究[J]. 无机化学学报, 2014, 30(2): 317-322.
JIANG J, LOU L G, CHEN X Z, et al. Synthesis and anti-tumor activity of two new water-soluble derivatives of heptaplatin[J]. Chinese journal of inorganic chemistry, 2014, 30(2): 317-322.
- [7] 全海天, 刘伟平, 叶青松, 等. 一种水溶性 s,s-型庚铂衍生物: CN 102079761[P]. 2012-09-19.
QUAN H T, LIU W P, YE Q S, et al. A water-soluble s, s-heptyl derivative: CN 102079761[P]. 2012-09-19.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[M]. 2015 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 374.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Chinese pharma-

- copoeia: vol IV[M]. 2015 ed. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 374.
- [9] 曹红云, 张晓南, 游燕, 等. 七叶莲药材中 5 种重金属及有害元素的测定[J]. 中药与临床, 2017, 8(3): 4-6.
CAO H Y, ZHANG X N, YOU Y, et al. Determination of five heavy metals and harmful elements in Qiyelian[J]. Pharmacy and clinics of Chinese materia medica, 2017, 8(3): 4-6.
- [10] 张亚红, 李华龙. 电感耦合等离子体质谱法测定阿加曲班原料药中催化剂钯的残留量[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(9): 1667-1670.
ZHANG Y H, LI H L. Determination of catalyst palladium residue in argatroban crude product by ICP-MS [J]. Chinese journal of pharmaceutical analysis, 2016, 36(9): 1667-1670.
- [11] 谢浙裕, 朱琳娇, 章少勇. 酒石酸长春瑞滨中催化剂银残留的 ICP-MS 法测定[J]. 中国药事, 2018, 32(5): 642.
XIE Z Y, ZHU L J, ZHANG S Y. Measurement of the residues of harmful elements and silver catalyst in vinorelbine tartrate by ICP-MS[J]. Chinese pharmaceutical affairs, 2018, 32(5): 642.
- [12] ICH. Guideline for elemental impurities Q3D(R1)[R]. [Final version 2019-03-22]. https://database.ich.org/sites/default/files/Q3D-R1EWG_Document_Step4_Guideline_2019_0322.pdf.
- [13] U.S. Pharmacopeial Convention. 232 Elemental impurities-limits[EB/OL]. (2013-02-01)[2013-03-25] http://www.usp.org/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/keyissues/c232_final.pdf.

【上接第 61 页】

- [2] 全国有色金属标准化技术委员会. 电解槽金属阳极涂层用三氯化钌: HG/T 3679-2011[S]. 北京: 中国标准出版社, 2011.
SAC/TC243. Ruthenium trichloride for dimensionally stable anode coating in electrolyzer: HG/T 3679-2011[S]. Beijing: Standard Press of China, 2011.
- [3] 全国有色金属标准化技术委员会. 亚硝酰基硝酸钌: YS/T755-2011[S]. 北京: 中国标准出版社, 2011.
SAC/TC243. Ruthenium nitrosyl nitrate: YS/T 755-2011[S]. Beijing: Standard Press of China, 2011.
- [4] 孙海荣, 杨红玉, 喻生洁, 等. ICP-AES 法测定三氯化钌中铁、铜、钙和镁的量[J]. 贵金属, 2018, 39(S1): 209-211.
SUN H R, YANG H Y, YU S J, et al. Determination of iron, copper, calcium and magnesium in ruthenium trichloride by ICP-AES[J]. Precious metals, 2018, 39(S1): 209-211.
- [5] 全国有色金属标准化技术委员会. 三氯化钌化学分析方法 第 2 部分 铝、钙、镉、铜、铁、锰、镁、钠量的测定 电感耦合等离子体原子发射光谱法: YS/T 1201.2-2017[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
SAC/TC243. Methods for chemical analysis of ruthenium trichloride - Part 2: Determination of aluminum, calcium, cadmium, copper, iron, manganese, magnesium, sodium - Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry: YS/T1201.2-2017[S]. Beijing: Standard Press of China, 2017.
- [6] 李秋莹, 甘建壮, 何姣, 等. 多元光谱拟合-电感耦合等离子体原子发射光谱法测定钌化合物中 19 种杂质元素[J]. 冶金分析, 2018, 38(9): 63-68.
LI Q Y, GAN J Z, HE J, et al. Determination of nineteen impurity elements in iridium compounds by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with multi-component spectral fitting correction[J]. Metallurgical analysis, 2018, 38(9): 63-68.
- [7] 任传婷, 马媛, 甘建壮, 等. 电感耦合等离子体原子发射光谱法测定纯钌中 26 种杂质元素[J]. 冶金分析, 2019, 39(5): 71-76.
REN C T, MA Y, GAN J Z, et al. Determination of twenty-six impurity elements in pure ruthenium by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry [J]. Metallurgical analysis, 2019, 39(5): 71-76.
- [8] 全国有色金属标准化技术委员会. 钌粉: YS/T 682-2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
SAC/TC243. Ruthenium powder: YS/T 682-2008[S]. Beijing: Standard Press of China, 2008.