

奥沙利铂杂质 C 的制备研究*

牛冲, 徐志洲, 李涛, 李军

(山东省药品检验所, 济南 250101)

摘要 目的:建立奥沙利铂杂质 C 的制备方法,进行结构解析并测定其含量。方法:以奥沙利铂为原料,用 3% 的 H_2O_2 溶液氧化制备杂质 C,并采用高效液相色谱法测定其含量。结果:杂质 C 的产率为 83%,其含量为 99.5%。结论:所建的制备方法简单、快速,可用于奥沙利铂杂质 C 对照品的制备。

关键词:奥沙利铂;杂质 C;双氧水;有关物质;结构;鉴定;含量

中图分类号:R917 文献标识码:A 文章编号:0254-1793(2011)07-1358-03

Study on preparation of oxaliplatin impurity C*

NIU Chong, XU Zhi-zhou, LI Tao, LI Jun

(Shandong Provincial Institute for Drug Control, Jinan 250101, China)

Abstract Objective: To establish a method of preparing, structure elucidation and assay of oxaliplatin impurity C. **Methods:** Impurity C was synthesized with Oxaliplatin and H_2O_2 , its content was assayed by HPLC.

Results: The yield of impurity C was 83%, and its content was 99.5%. **Conclusion:** The method was simply and convenient, and can be used to prepare the impurity C reference substance.

Key words: oxaliplatin; impurity C; H_2O_2 ; related substance; structure; identification; assay

奥沙利铂杂质 C 化学名为 (OC-6-33) - [(1R,2R)-环己烷-1,2-二胺-kN,kN ϕ][乙二酸(2-)-kO¹,kO²]二羟基铂,结构见图 1。欧洲药典 6.0 版 (EP6.0)^[1] 以及英国药典 2009 版 (BP2009)^[2] 均采用对照品外标法对其进行控制,奥沙利铂国家标准 WS₁-(X-104)-2003Z 仅对杂质总量进行了控制,未对杂质 C 及其他杂质进行单独控制。目前国内无杂质 C 对照品提供,需购买 EP 对照品,价格昂贵。本文在奥沙利铂实验中,发现奥沙利铂能被 H_2O_2 氧化为杂质 C,因此对杂质 C 的制备、结构鉴定及含量测定进行了研究,以期对杂质 C 对照品的制备提供参考,从而更好的控制产品的质量。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 岛津 20A 高效液相色谱仪,Agilent1200-6320-ion trap 高效液相色谱质谱联用仪,Avatar 370 红外分光光度计,Agilent 6520 QTOF 串联质谱仪,SMARTAPEX 单晶衍射仪(Bruck)。

1.2 试剂 杂质 C 对照品为 EP 对照品,批号:

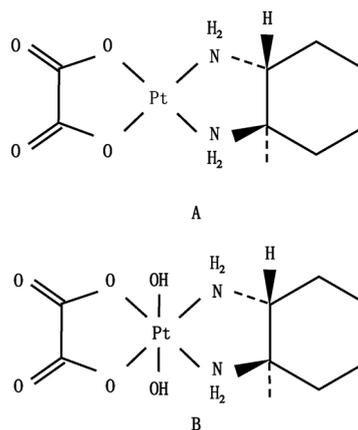


图 1 奥沙利铂(A)及杂质 C(B)结构

Fig 1 Structures of oxaliplatin(A) and impurity C(B)

Y0000273 4.0, ID: 00DGA9, 乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为去离子水。

2 方法

2.1 氧化研究 取奥沙利铂 10 mg,加水适量,超声溶解,加 3% H_2O_2 溶液 2 mL,加水稀释至 50 mL,

* 国家科技重大专项重大新药创制-输液生产线关键工艺在线监控技术平台建设(2009ZX09313-023)
第一作者 Tel: (0531) 81216516; E-mail: ncmilan@126.com

在 10, 30, 60, 90, 120, 180 min 时分别进样测定, 照“2.5”项下色谱条件进行测定。样品溶液中杂质 C 的不断增多, 而奥沙利铂含量不断减少。180 min 后, 奥沙利铂基本上被氧化为杂质 C, 见图 2。

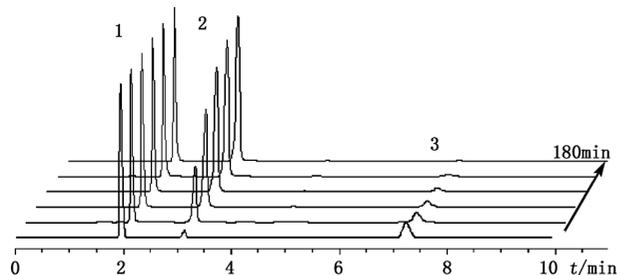


图 2 奥沙利铂和杂质 C 色谱图

Fig 2 Chromatographies of oxaliplatin and impurity C

1. H₂O₂ 2. 杂质 C (impurity C) 3. 奥沙利铂 (oxaliplatin)

2.2 制备方法 称取 5.0 g 奥沙利铂, 加水 1000 mL, 超声 (500 W, 40 kHz) 10 min 使溶解, 加 3% H₂O₂ 溶液 50 mL, 放置过夜, 100℃ 水浴蒸干, 残渣加水 600 mL 超声使溶解, 过滤, 滤液放冷使析出结晶, 滤过, 结晶用水洗涤数次, 即得杂质 C 粗品 5.2 g。粗品用水重结晶得精制品, 以五氧化二磷为干燥剂, 60℃ 减压干燥 12 h, 得 4.5 g 淡黄色粉末, 即杂质 C 的收率为 83%。

2.3 结构鉴定

2.3.1 高分辨质谱 (HR-MS) 电喷雾电离源 (ESI), 正离子检测, *m/z* 范围: 100 ~ 1000; 离子源喷射电压为 5 kV, 雾化电压为 138 kPa, 干燥气流速为 5 L · min⁻¹, 干燥气温度为 340℃, 毛细管电压 15 V; Q-TOF 参数: 全自动调谐。供试品溶液浓度为 0.1 mg · mL⁻¹。测得 [M + H]⁺ 为 432.0711, 准确质量数为 432.0734, 误差 4.22 × 10⁻⁶。由此可得 [M + H]⁺ 分子式为 C₈H₁₇N₂O₆Pt, 因此本品的分子式为 C₈H₁₆N₂O₆Pt, 与杂质 C 分子式一致。

2.3.2 红外光谱 (IR) 取本品, 用 KBr 压片, 红外数据显示, 分子中有羟基 (3524 cm⁻¹, ν_{-OH})、氨基 (3171 与 3071 cm⁻¹, ν_{-NH})、亚甲基 (2946, 2860 cm⁻¹, ν_{-CH}) 及羰基 (1735, 1718 cm⁻¹, ν_{-C=O}) 等官能团, 红外光谱与杂质 C 对照品的图谱完全一致。

2.3.3 X-单晶衍射 取本品 70℃ 水浴制成热的饱和溶液, 滤过, 续滤液放置, 使慢慢析出结晶。结晶依法测定, 仪器空间群为 P1, 晶胞参数: 晶胞长度 a = 7.5198 (13) Å, b = 9.0039 (15) Å, c = 22.488 (4) Å; 晶胞角 α = 90°, β = 90°, γ = 90°; 晶胞内分子数 Z = 4, 晶胞体积 V = 1522.6 (5) Å³, F₀₀₀ = 936。用直接法解析结晶结构, 有 7775

条可观测反射, 结构由最小二乘法修正, 算得最终一致性因子 R₁ = 0.0356, wR₂ = 0.0857。计算晶体密度 D = 2117 kg · m⁻³。结果如图 3 所示, 其结构为杂质 C 带有 3 个结晶水。

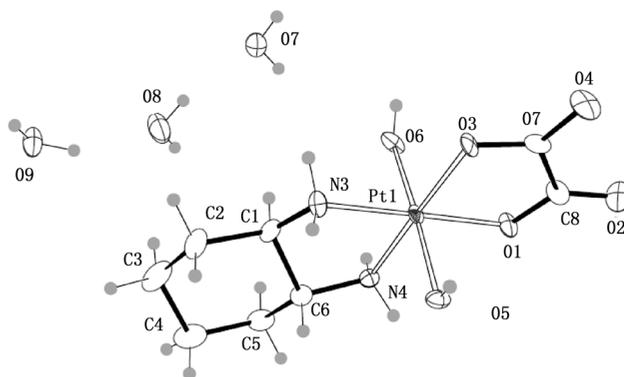


图 3 杂质 C X-单晶衍射图

Fig 3 X-ray single crystal diffraction spectrum of impurity C

2.4 HPLC-MS

色谱条件: 除流速为 0.4 mL · min⁻¹ 外, 其余同“2.5”项下色谱系统 1。质谱条件: 电喷雾离子源 (ESI), 正离子检测; *m/z* 范围: 100 - 500; 离子源喷射电压为 5 kV, 雾化电压为 103 kPa, 干燥气流速为 5 L · min⁻¹, 干燥气温度为 340℃, 毛细管电压 15 V。

取“2.5”项下供试品溶液及对照品溶液, 分别进样测定。供试品与对照品色谱峰保留时间分别为 4.623 min 与 4.622 min, 质谱数据 (三级) 均一致, 见图 4。

本反应条件较温和, 不会造成奥沙利铂构型的变化, 因此未对构型进行研究。由于无合适的溶剂进行核磁共振 (NMR) 碳谱检测, 且 NMR 不能给出 Pt 及 N 等元素的结构信息, 故未进行 ¹H-NMR 及 ¹³C-NMR 检测。X-单晶衍射能够提供比较直观的元素组成、分子量及分子结构等信息, 结合 IR、HR-MS 以及 HPLC-MS 数据, 确定本品即为杂质 C。

经查阅文献, 国内外无杂质 C 结构确证文献。为完善结构确证数据, 后续工作将寻找合适的溶剂进行 ¹H-NMR 及 ¹³C-NMR 的测定。

2.5 杂质 C 含量测定

采用 2 套液相系统对杂质 C 进行了含量测定。流动相为磷酸溶液 (0.6 mL 稀磷酸, 稀释至 1000 mL, 用磷酸或氢氧化钠溶液调 pH 至 3.0) - 乙腈 (1000:5); 检测波长为 210 nm, 进样量为 20 μL。

系统 1: Agilent 1200 高效液相色谱仪, Luna C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm 5 μm)。

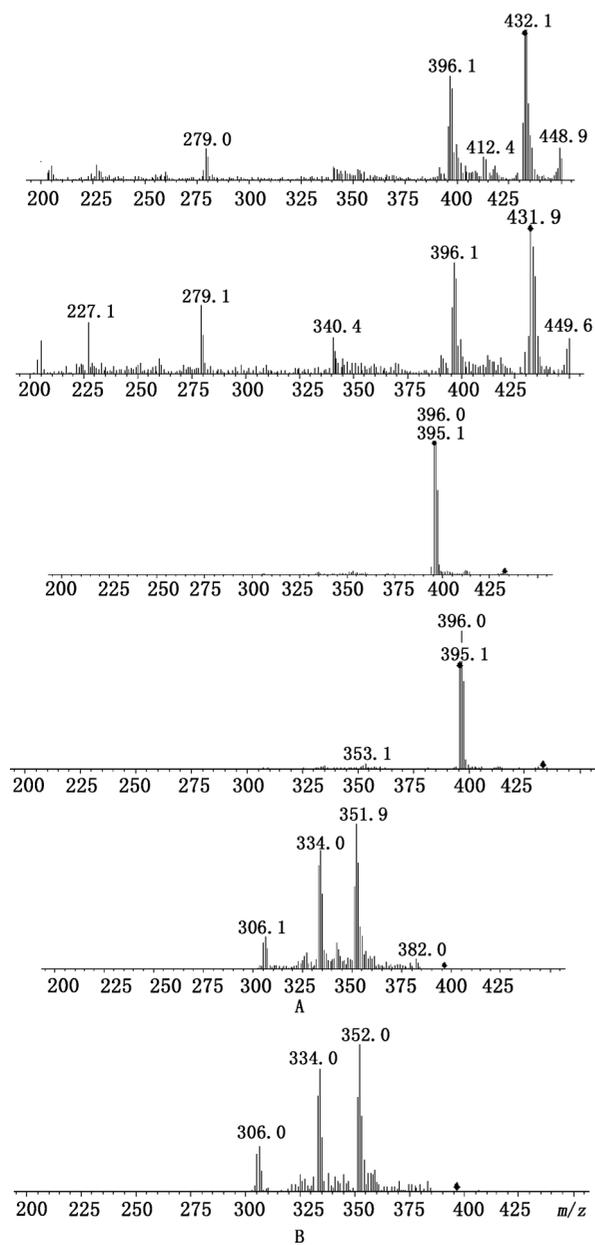


图4 杂质C对照品及供试品质谱图
 Fig 4 Fragments of reference substance and impurity C in electrospray ion trap spectrometry
 A. 对照品 (Reference substance) B. 杂质 C (Impurity C)

系统 2: 岛津 20A 高效液相色谱仪, Agilent XDB C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm 5 μm)。

取杂质 C 10 mg (3 份), 加水超声溶解并稀释至 100 mL, 精密量取 5 mL, 用水稀释至 100 mL, 摇匀, 作为供试品溶液。另取杂质 C 对照品 10 mg (2 份) 同法操作, 作为对照品溶液。取上述溶液, 分别进样测定。两个系统杂质 C 的含量均为 99.5%, RSD 分别为 0.12% (n=6) 及 0.20% (n=6)。

3 讨论

本反应采用 H₂O₂ 作为氧化剂, H₂O₂ 可通过加热分解为水与氧气, 不引入新的杂质, 便于后续的分

离工作。目前国内只能购买 EP 的杂质 C 对照品, 价格昂贵。而且由于西林瓶及瓶塞的吸附, 标示装量 15 mg 的杂质 C 对照品实际只能称取 10 mg 左右, 造成极大的浪费。本文制备得到高纯度的杂质 C, 可作为杂质 C 工作对照品使用, 为奥沙利铂中的杂质 C 的控制提供有益参考, 促进药品质量的提高。

奥沙利铂及其制剂存储过程中, 可降解产生草酸(杂质 A)、二水合奥沙利铂(杂质 B)及杂质 C^[3,4], 建议国家标准能够参照 EP6.0 的各杂质的检测方法对各杂质进行研究以确保产品的质量安全。

参考文献

- 1 EP 6.0. Volume 2: 2574
- 2 BP 2009. Volume II: 1516
- 3 FU Ping (傅萍), LAN Wan-ling (兰婉玲), ZHANG Lei (张蕾). Approach on test of related substances in oxaliplatin for injection (关于注射用奥沙利铂有关物质检查方法的探讨). *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志) 2009 29(11): 1850
- 4 Michaela R, Katrin W. Plastic bottle for oxaliplatin solution. USA, US2008/0208141 A1, 2008-8-28

(本文于 2010 年 8 月 31 日收到)