

顺铂在玻碳电极上的电化学行为及其测定的研究*

放茂良^{1,2}, 李乔丽^{1,2}, 刘琼^{1,2}, 贝玉祥³, 高云涛^{1,2**}

(1. 云南民族大学化学与生物技术学院, 昆明 650500;

2. 国家民族事务委员会 - 教育部共建民族药资源化学重点实验室, 昆明 650500; 3. 昆明贵研药业有限公司, 昆明 650106)

摘要 目的: 研究顺铂在玻碳电极上的电化学行为及其测定方法。方法: 循环伏安法(CV)和差分脉冲伏安法(DPV)。结果: 顺铂在玻碳电极上有一对可逆氧化还原峰, 氧化峰电位 E_{pa} 与还原峰电位 E_{pc} 分别为 0.78 V, 0.3 V, $\Delta E = 0.48$ V, $I_{pa}/I_{pc} = 4.30$ 。在优化条件下, 顺铂的氧化峰电流与其浓度在 $6.54 \times 10^{-5} \sim 3.03 \times 10^{-4}$ mol · L⁻¹ 范围内成良好的线性关系 ($r = 0.9978$) 检出限为 3.9×10^{-5} mol · L⁻¹。结论: 本方法操作简便, 准确可靠, 灵敏度高, 可用于顺铂含量的直接测定。

关键词: 顺铂; 玻碳电极; 电化学行为; 伏安法; 抗肿瘤药; 含量

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0254 - 1793(2011)06 - 1165 - 03

Study on the electrochemical behavior and determination of cisplatin at glassy carbon electrode*

FANG Mao-liang^{1,2}, LI Qiao-li^{1,2}, LIU Qiong^{1,2}, BEI Yu-xiang³, GAO Yun-tao^{1,2**}

(1. School of Chemistry and Bio-technology, Yunnan Nationalities University, Kunming 650500, China;

2. Key lab of National Medicine Supported Jointly by State Ethnic Affairs Commission and Ministry of Education, Kunming 650500, China;

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

Abstract Objective: To investigate the electrochemical behavior and determination of cisplatin at glassy carbon electrode. **Methods:** Cyclic voltammetry and differential pulse voltammetry. **Results:** One pair of quasi-reversible redox peaks of cisplatin was obtained at glassy carbon electrode by cyclic voltammetry with 0.78 V of E_{pa} and 0.3 V of E_{pc} , $\Delta E = 0.48$ V, and $I_{pa}/I_{pc} = 4.30$. Under optimal condition, the oxidization peak was linearly related to the concentration of cisplatin in the range of $6.54 \times 10^{-5} \sim 3.03 \times 10^{-4}$ mol · L⁻¹ with the detection limit of 3.9×10^{-5} mol · L⁻¹. **Conclusion:** This method was convenient, accurate, credible and sensitive, it can be used in the determination of cisplatin.

Key words: Cisplatin; glassy carbon electrode; electrochemical behavior; voltammetry; anticarcinoma drug; content

顺铂 (Cisplatin) 即顺式二氯二氨合铂的简称, 常缩写为 cDDP, 是一种广谱高效抗肿瘤药物, 其特点是抗癌作用强, 抗癌活性高。1969 年美国科学家 Rosenberg 最早发现顺铂对肿瘤细胞生长具有很强的抑制作用, 其抗肿瘤的广谱性和高效性很快引起各国学者的浓厚兴趣。上世纪 70 年代, 顺铂首次进入临床实验并成为在美国上市的第一个铂类抗癌药物。1995 年世界卫生组织对上百种抗癌药物进行排名, 顺铂的综合评价位居榜前, 列第二位。另据统计, 在我国以顺铂为主或有顺铂参加配伍的化疗方案占有所有化疗方案的 70% ~ 80%^[1]。已报道的对

顺铂的分析测试方法主要有高效液相色谱法^[2-4]、石墨炉原子吸收法^[5]、ICP - AES 法^[6]、分光光度法^[7]、质谱法^[8]等。目前对顺铂的电化学测定方法鲜见文献报道。本文研究了顺铂在玻碳电极上的伏安行为, 建立了顺铂注射液中顺铂的 DPV 测定新方法。

1 仪器与试剂

MEC - 12B 型多功能微机电化学分析仪 (江苏江分电分析仪器有限公司); 三电极系统: 玻碳电极 (GCE, $\varphi = 3$ mm) 做工作电极, 饱和甘汞电极 (SCE)

* 云南民族大学研究生创新项目

** 通讯作者 Tel: 13888610792; E-mail: yuntaogao@sohu.com

做参比电极,铂丝电极做辅助电极;AS3120A 超声波清洗器(天津奥特赛恩斯仪器有限公司,功率 120 W);AR224CN 电子天平。

顺铂标准品(含量 $\geq 99\%$,昆明贵研药业有限公司)使用前用 KCl 缓冲溶液超声溶解配制成一定浓度溶液;顺铂注射液(云南个旧生物药业有限公司)。其余试剂均为分析纯,实验用水为二次蒸馏水。

2 实验方法

2.1 玻碳电极预处理 实验前玻碳电极在金相砂纸上打磨,再用 $0.05 \mu\text{m}$ Al_2O_3 抛光成镜面,然后依次用 1:1 乙醇和蒸馏水分别超声清洗 5 min。

2.2 循环伏安法 取一定量顺铂溶液至 10 mL 比色管,加 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCl 稀释至刻度,然后转至电解池,采用三电极系统,于 $-0.2 \sim 1.1 \text{ V}$ 电位扫描范围内,以 $0.05 \text{ V} \cdot \text{s}^{-1}$ 的扫描速度进行循环伏安扫描,记录循环伏安曲线。

2.3 差分脉冲伏安法 取不同浓度的顺铂溶液分别于 10 mL 比色管中加 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCl 稀释至刻度,然后转至电解池,采用三电极系统,在 $-0.2 \sim 1.1 \text{ V}$ 电位扫描范围内,以脉冲宽度 100 ms、脉冲幅度 50 mV、脉冲间隔 150 ms 进行差分脉冲伏安扫描。

3 结果与讨论

3.1 支持电解质的选择 以扫描速度 $0.05 \text{ V} \cdot \text{s}^{-1}$,在 $-0.2 \sim 1.1 \text{ V}$ 电位范围内,考察了顺铂在不同支持电解质(HAc - NaAc 缓冲溶液、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲溶液和 KCl 缓冲溶液)中的电化学反应。结果发现,顺铂在 HAc - NaAc 和 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{NaH}_2\text{PO}_4$ 中峰形较差,而在 KCl 缓冲溶液中出现一对明显的氧化还原峰,峰形较好,且峰电流大小与其浓度的增减呈现正比关系,因此,实验中选用 KCl 作为底液。

3.2 顺铂在玻碳电极上的电化学反应 以“2.2”项所述方法测定顺铂在玻碳电极上的电化学反应。顺铂在 $-0.2 \sim 1.1 \text{ V}$ 电位范围内有一对氧化还原峰,氧化峰电位 $E_{\text{pa}} = 0.78 \text{ V}$,还原峰电位 $E_{\text{pc}} = 0.3 \text{ V}$, $\Delta E = 0.48 \text{ V}$,氧化峰电流 $I_{\text{pa}} = 1.89 \mu\text{A}$,还原峰电流 $I_{\text{pc}} = 0.44 \mu\text{A}$, $I_{\text{pa}}/I_{\text{pc}} = 4.30$ 。

3.3 扫描速度的选择及其对电极过程的影响

室温下,考察了顺铂在 $0.04 \sim 0.1 \text{ V} \cdot \text{s}^{-1}$ 扫描速度范围内峰电流与扫描 v 的关系,如图 1 所示。实验发现:随着扫描速度的增加,氧化峰电流 I_{pa} 与还原峰电流 I_{pc} 增加,氧化峰电位正移,还原峰电位负移,

且 I_{pa} 、 I_{pc} 均与扫描速度的平方根成线性关系,其关系式为:

$$I_{\text{pa}} = 6.5247v^{1/2} - 0.0899 \quad r = 0.9966$$

$$I_{\text{pc}} = 1.4008v^{1/2} + 0.0939 \quad r = 0.9964$$

以上数据说明顺铂在玻碳电极上的电化学反应是准可逆过程,在 $0.04 \sim 0.1 \text{ V} \cdot \text{s}^{-1}$ 扫描范围内受扩散控制^[9]。

实验同时考察了扫描速度分别为 $0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.3 \text{ V} \cdot \text{s}^{-1}$ 时的电化学信号稳定性及信噪比,发现扫描速度为 $0.05 \text{ V} \cdot \text{s}^{-1}$ 时电化学信号更稳定,信噪比更好,所以本实验选择扫描速度为 $0.05 \text{ V} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

根据 Laviron 理论^[10],峰电流 I 与电子转移数 n 有如下关系:

$$I = \frac{n^2 F^2 A T_T v}{4RT} = \frac{nFQv}{4RT}$$

上式中 F 为法拉第常数 $96485 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$, A 为电极表面积, T 为摄氏温度, $Q = nFAT_T$ 为循环伏安单一过程的峰面积(以电量计),当扫描速度 $v = 0.05 \text{ V} \cdot \text{s}^{-1}$ 时,氧化峰求得电子转移数 $n = 1.89$ 约等于 2。

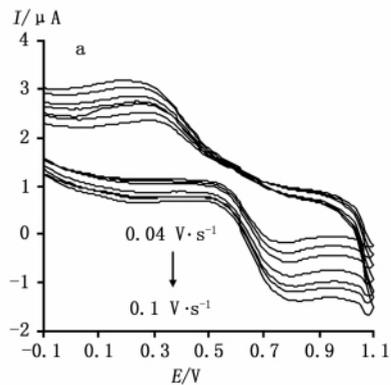


图 1 不同扫描下顺铂的循环伏安图

Fig 1 CV curves of cisplatin at different scan rates

3.4 电极重复性和稳定性评价 取相同体积的同浓度顺铂溶液 5 组,在最佳条件下分别进行 CV 扫描,获得的峰电流大小的 RSD 为 1.4% ($n = 5$)。另外,峰电流达到最大值后进行反复测定,10 h 内峰电流及峰电位均无明显差异,实验表明重复性与稳定性较好。

3.5 DPV 测定的线性关系及检出 按照“2.3”项所述方法,用玻碳电极对顺铂进行差分脉冲伏安法测定。图 2 为不同浓度顺铂在玻碳电极上(以 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCl 缓冲溶液为底液)的 DPV 单向扫描曲线。氧化峰电流与其浓度在 $6.54 \times 10^{-5} \sim 3.03$

$\times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内成良好的线性关系,其线性关系式为:

$$I_{pa} = 1.7268C + 0.0953 \quad r = 0.9978$$

检出限为 $3.9 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

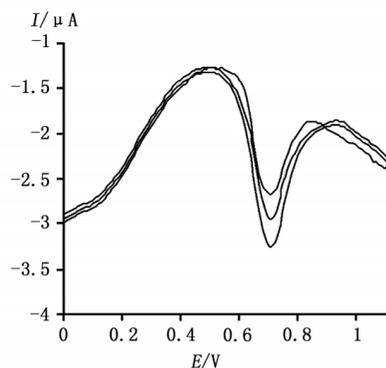


图2 顺铂的DPV曲线

Fig 2 DPV curve of cisplatin

3.6 样品测定

取一定量顺铂注射液用 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCl 缓冲溶液定容至 10 mL,摇匀,分别取 1 mL 的 3 组再用 KCl 稀释至 10 mL 作为待测样品,转移至电解池,在上述优化条件下进行差分脉冲伏安法单向扫描,并用标准加入法进行样品回收测定,测定结果见表 1。

表 1 样品测定结果 ($n = 3$)

Tab 1 Determination results of the sample

样品 (sample)	标示量 (labeled) / $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	测得量 (found) / $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	RSD /%	加入量 (added) / $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	回收率 (recovery) /%
1	1.5×10^{-5}	1.48×10^{-5}	1.4	2.5×10^{-5}	106.0
2		1.47×10^{-5}	1.7	3.33×10^{-5}	103.9
3		1.51×10^{-5}	1.2	4.17×10^{-5}	97.1

如表 1 所示,测得样品的相对标准偏差为 1.2% ~ 1.7%,加标回收率在 97.1% ~ 106% 之间,表明本方法具有很好的准确度和精密性,可以用于药品中顺铂的定量测定。

4 结论

本文利用循环伏安法对抗癌药物顺铂进行了电化学行为的研究,探讨了测定的优化条件,建立了顺铂的差分脉冲伏安测定新方法,结果表明此方法准确可靠。

参考文献

- 1 YANG Yi-kun(杨一昆),PU Shao-ping(普少平),GAO Wen-gui(高文桂). Application of cisplatin and research development in platinum-containing anticancer drugs(顺铂的应用及铂族金属抗癌药物的研究进展). *Chin New Drugs J(中国新药杂志)*, 1999, 8(12): 797
- 2 LIU Zhu-dong(刘祝东),LIU Yang(刘洋),YANG Yi-kun(杨一昆) et al. Analysis of cisplatin injection by HPLC(顺铂注射液的高效液相色谱分析). *Precious Metals(贵金属)* 2001 22(2): 32
- 3 GE Yong-qian(葛勇前),ZHANG Yu-qin(张玉勤),LU Guo-chun(陆国椿) et al. Simultaneous determination of cisplatin and etoposide in plasma and tissue by HPLC(HPLC法同时检测血浆及组织中的顺铂和依托泊苷的浓度). *Chin J Pharm Anal(药物分析杂志)* 2003 23(2): 87
- 4 CHEN Xi-zhu(谌喜珠),LIU Yang(刘洋),LIU Wei-ping(刘伟平). Preparation and purity determination of cisplatin used for a reference standard(抗癌药顺铂对照品制备及其纯度测定). *Chin J Anal Lab(分析实验室)* 2008 27(2): 46
- 5 ZHANG Yan-zi(张燕子),SHU Yong-hong(舒永红),CHEN Jian-ping(陈建平) et al. Direct determination of cis-platinum complexes in whole blood by GFAAS with compact platform(一体化平台石墨炉原子吸收光谱法直接测定全血中顺铂). *Guang-dong Trace Elem Sci(广东微量元素科学)* 2003 10(11): 51
- 6 YANG Ye-mei(杨叶梅),HE Yu-ping(贺与平),CHEN Jin-su(陈金素) et al. Determination of cisplatin or carboplatin in blood by ICP-AES(ICP-AES法测定顺铂、卡铂血药浓度). *Chin J Health Lab Technol(中国卫生检验杂志)* 2000 10(3): 259
- 7 SUN Xin(孙昕),HUANG Feng-xin(黄凤心),MEI Wei-de(梅蔚德) et al. Determination of DDP in body fluid of cancer patients by spectrophotometric method(分光光度法测定肿瘤患者体液中顺铂含量). *Chin J Spectrosc Lab(光谱实验室)*, 1994, 11(5): 17
- 8 WU Cui-fang(吴翠芳),LIU Shi-kun(刘世坤),ZHOU Yu-lu(周于禄) et al. ICP-MS determination of intracellular cisplatin in human lung adenocarcinoma cell and its application of drug-resistance(电感耦合等离子质谱法测定肺腺癌细胞内顺铂浓度及其在耐药研究中的应用). *Chin J Pharm Anal(药物分析杂志)*, 2008 28(10): 1609
- 9 GAO Peng(高朋),SHI Jin(石谨),LI Ju-nan(黎拒难) et al. Anodic adsorptive voltammetric determination of ofloxacin at A carbon paste electrode(碳糊电极阳极吸附伏安法测定氧氟沙星). *Chin J Appl Chem(应用化学)* 2005 22(5): 578
- 10 Laviron E. General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems. *Electroanal Chem* 1979 101(1): 19

(本文于 2010 年 9 月 14 日收到)