

含5-氟尿嘧啶的聚乙二醇酯的制备与表征

常军, 郑玉斌, 段久芳, 尚宏周, 吕婷婷

(大连理工大学高分子材料与工程系, 辽宁大连116012)

摘要:采用氯乙酸与不同分子量的聚乙二醇进行酯化反应得到氯乙酸聚乙二醇酯, 由于酯中的 α -氯具有良好的反应活性, 将它再与抗癌药物5-氟尿嘧啶结合制备了不同分子量的高分子前药, 并对得到的产物进行表征。产物的体外降解实验表明, 该产物具有长效缓释的功效, 其中(PEG 2000)-5-FU的载药量为18.6%, 随着聚乙二醇分子量的增加, 产物水溶性提高, 当聚乙二醇相对分子质量为2000时水解速率最大。

关键词:5-氟尿嘧啶; 聚乙二醇; 酯化; 高分子前药; 抗癌药物

中图分类号:TQ463.54; O633.11

文献标识码:A

文章编号:0253-4320(2006)03-0040-03

Synthesis and characterize of 5-fluorouracil and polyethylene glycol conjugate

CHANG Jun, ZHENG Yu-bin, DUAN Jiu-fang, SHANG Hong-zhou, LU Chan-ting

(Department of Polymer Materials & Engineering, Dalian University of Technology, Dalian 116012, China)

Abstract: A series of novel polyethylene glycol derivates was synthesized by esterification of chloroacetic acid with polyethylene glycol. Because of the good reactive activity of α -chlorin in the esters it can react with 5-fluorouracil, thus the conjugate can be obtained. The conjugate is characterized by IR, $^1\text{H-NMR}$ and UV spectroscopy and it shows a longer duration of activity due to the slow release. The loading content of the (PEG 2000)-5-FU conjugate was 18.6%, and as the molecular weight of polyethylene glycol heightens, the water-solubility was enhanced. When the molecular weight reaches 2000, the hydrolyzation speed is the fastest.

Key words: 5-fluorouracil; polyethylene glycol; esterification; polymeric pro-drug; antineoplastic drug

5-氟尿嘧啶(5-FU)是一种常用的抗癌药物,但在临床应用时尚存在恶心、呕吐、腹泻、白细胞及血小板下降等副作用。近年来寻找运载物增加对肿瘤细胞的识别日益引起了人们的兴趣。采用天然或合成的高分子化合物作为运载体,采用共聚或接枝的方法与5-氟尿嘧啶结合制备高分子前药已有研究^[1-2]。用它们运载低分子抗癌药物的优点,是由于它们有较高为细胞内吞的活性,这就可能为肿瘤细胞所摄取,提高药物在肿瘤细胞中的浓度,活性代谢物可以固定在细胞内。聚乙二醇具有生物相容性好、亲水性强等优点,笔者通过酯化反应^[3]进行官能团转换,成功地将5-氟尿嘧啶接入聚乙二醇端基,并对得到的复合物进行了结构表征和体外降解实验。

1 实验部分材料与仪器

1.1 实验材料与仪器

傅里叶变换红外光谱(FT-IR)在 Nicolet-20DXB型红外光谱仪上,采用KBr压片法测试。核磁共振氢谱($^1\text{H-NMR}$)采用FX-90Q型核磁共振仪测定,以 CDCl_3-d_1 为溶剂,TMS为内标测得。UV7500型紫外分光光度仪。X4型显微熔点测定仪。

PEG 600, PEG 1000, PEG 1540, PEG 2000, PEG 4000均为分析纯,用前与环己烷共沸脱水;无水碳酸钾,分析纯,用前烘干;二甲基甲酰胺(DMF),经氢氧化钾干燥,重新蒸馏,沸点 $151 \sim 153^\circ\text{C}$;5-FU用水重结晶,真空干燥,熔点 281°C ;氯乙酸,分析纯;四氢呋喃,分析纯,用粒状KOH干燥,然后氮气保护下蒸馏。

1.2 合成路线

合成路线如下:

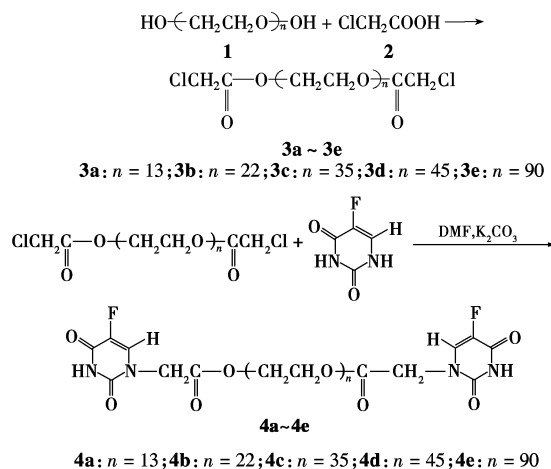


图1 含5-FU聚酯的合成路线

1.3 酯化产物的合成^[3-4]

在一个装有滴液漏斗、电动搅拌装置和回流冷凝管的 250 mL 三口烧瓶中,分别加入 20 g(0.01 mol) PEG 2000 和 7.56 g(0.08 mol) 氯乙酸,再加入 20 mL 的四氢呋喃作溶剂,搅拌下加热到 80℃,用滴液漏斗向三口烧瓶中缓慢滴加 3.5 mL 的浓硫酸-亚磷酸混合酸作为催化剂。反应结束后,减压蒸馏除去溶剂,然后将反应混合物转移至大烧杯中,加入饱和食盐水,摇匀,静置后分层,上层为清液,下层有褐色固体沉淀析出,过滤,收集此沉淀物,水洗使其呈中性,得到咖啡色粉末,30℃下真空干燥至恒重。

PEG 600、PEG 1000、PEG 1540 和 PEG 4000 按照相同的方法进行酯化反应。

1.4 含 5-FU 的聚乙二醇酯的合成^[5-6]

在装有机械搅拌、回流冷凝管和温度计的 100 mL 三口烧瓶中加入 0.65 g(0.005 mol) 5-FU、0.69 g(0.005 mol) 无水碳酸钾,将二者溶解于 15 mL DMF 中,升温到 100℃,反应 1 h 后,将 10 g(0.005 mol) PEG 2000 酯溶解于 15 mL DMF 中加入三口烧瓶中,继续反应 9 h,停止加热。得到棕色的溶液,对其真空蒸馏,除去大部分的 DMF 溶剂。将剩余物倒入适量的蒸馏水中,得到沉淀。抽滤,用蒸馏水反复清洗几次直到呈中性为止,得到土黄色固体物质。

1.5 PEG-5-FU 复合物载药量的测定

复合物在碱性条件下可水解释放出 5-FU,因此可应用紫外分光光度法对复合物的载药量进行测定。具体步骤为:精密量取干燥至恒重的 5-FU 10 mg,溶解于 0.05 mol/L 的 NaOH 溶液 100 mL 中,配制成 5-FU 母液。分别用移液管量取母液 1.0、1.5、2.0、3.0、3.5、4.0 mL,各用 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液稀释至 10 mL,测定 265 nm 处的吸光度值,得回归方程。精密量取干燥至恒重的 PEG-5-FU 复合物,溶解于 0.05 mol/L 的 NaOH 溶液中,以 0.05 mol/L 的 NaOH 溶液为空白对照,测定 265 nm 处的吸光度值,根据回归方程求出载药量。

1.6 PEG-5-FU 复合物体外释药性能的测定^[7]

分别取复合物 4b、4d 和 4e 约 100 mg,用红外压片机模压成型(400 MPa,室温,1 min),样片直径为 11 mm,厚度为 0.6 mm。将制好的样片封入透析袋中,分别置于 30 mL 0.2 mol/L, pH = 7.2 的磷酸盐缓冲液, 0.1 mol/L 盐酸和 0.05 mol/L NaOH 溶液中, 37℃ 恒温振荡,每隔一段时间取样,每取样一次更换一次缓冲液,直接用 UV(紫外-可见分光光度法)定量检测缓冲液中药物浓度。另取 30 mg 5-FU 封入

透析袋中,在相同的条件下做对照实验。

2 结果与讨论

2.1 复合物的结构与表征

用熔点测定仪、UV、FT-IR、¹H-NMR 考察了复合物的结构及溶解性,结果列于表 1 至表 4 中。

表 1 复合物的收率及理化性能测试

产物(n)	收率/%	外观	熔点/℃	$\lambda_{\max}^{(2)}/\text{nm}$
4a(13)	65	棕红色黏稠物	— ^①	265
4b(22)	64	土黄色固体	35	265
4c(35)	56	土黄色固体	38	265
4d(45)	52	土黄色固体	45	265
4e(90)	43	黄色固体	58	265

注:①4a 为黏稠体,无法测定熔点;②紫外吸收以 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液为溶剂测量。

表 2 复合物的红外光谱

产物	$\nu_{\text{C-H}}$	$\nu_{\text{C=O}}$	$\nu_{\text{C-O-C}}$	$\nu_{\text{C-Cl}}/\nu_{\text{C-F}}$	$\nu_{\text{CH}_2\text{CH}_2}$
3a		1750(s)	1190(s)	740(w)	2962(m)
3b		1747(s)	1190(s)	740(w)	2962(m)
3c		1747(s)	1198(s)	745(w)	2964(m)
3d		1750(s)	1195(s)	741(w)	2963(m)
3e		1747(s)	1190(s)	741(w)	2962(m)
4a	3085(m)	1747(s), 1723(s), 1666(s)	1199(s)	1247(m)	2961(m)
4b	3085(m)	1747(s), 1722(s), 1668(s)	1200(s)	1247(m)	2962(m)
4c	3085(m)	1750(s), 1722(s), 1661(s)	1198(s)	1248(m)	2962(m)
4d	3080(m)	1748(s), 1722(s), 1661(s)	1200(s)	1248(m)	2961(m)
4e	3082(m)	1750(s), 1723(s), 1666(s)	1200(s)	1247(m)	2962(m)

将得到的化合物与 5-FU 的谱图比较可以看到,聚合物 3 085 cm^{-1} 处和 1 723 cm^{-1} 处, 1 666 cm^{-1} 处的吸收峰与 5-FU 的吸收峰一致。而聚合物中 5-FU 嘧啶环上 N—H 特征吸收峰分别在 3 135 cm^{-1} 处, 881 cm^{-1} 处和 815 cm^{-1} 处的特征吸收峰强度减弱,这说明聚合物中的 N—H 键已经被部分破坏。在 1 747 cm^{-1} 处出现的双氯乙酸聚乙二醇酯的

C=O 键特征吸收峰。1 200 cm^{-1} 处出现的吸收峰与双氯乙酸丁二醇酯中的 C—O—C 键的特征吸收峰相符。2 961 cm^{-1} 处出现的特征吸收峰与聚乙二醇(CH_2)₂的特征吸收峰相符。

表3 复合物的核磁谱图数据

化学位移	$\delta(-\text{N}-\text{CH}_2-)$	$\delta(-\text{O}-\text{CH}_2-)$	$\delta(-(\text{CH}_2)_2-)$	$\delta(\text{N}-\text{H})$
4a	4.620(d,2H)	4.196(d,2H)	1.746(m,4H)	7.998(d,1H)
4b	4.621(d,2H)	4.196(d,2H)	1.745(m,4H)	7.998(d,1H)
4c	4.622(d,2H)	4.196(d,2H)	1.746(m,4H)	7.997(d,1H)
4d	4.620(d,2H)	4.196(d,2H)	1.746(m,4H)	7.998(d,1H)
4e	4.621(d,2H)	4.196(d,2H)	1.745(m,4H)	7.996(d,1H)

从核磁共振谱来看,5-FU 的 NMR 图谱低场 $\delta = 11.3$ 为 5-FU 环上 H_1 的共振吸收,在聚酯的 NMR 图谱中则完全消失,而 H_6 依然存在,同时还出现了新的吸收峰 H_a 、 H_b 和 H_c ,这些结果进一步证明上述的化学结构^[8]。

根据对得到的复合物的红外光谱与单体的红外光谱的比较以及复合物的核磁共振谱图,可以判断得到的产物具有预期的化学结构。

表4 复合物的溶解性^①

溶剂	苯甲醇	丙酮	二氧 六环	乙酸 乙酯	二甲基 甲酰胺	氯仿	DMSO	水
4a	++	++	-	--	++	++	++	--
4b	++	++	-	--	++	++	++	--
4c	++	++	-	--	++	++	++	--
4d	++	++	-	--	++	++	++	--
4e	++	++	-	--	++	++	++	--

注:①室温,100 mg 复合物/5 mL 溶剂。++ 为易溶,- 为微溶,-- 为不溶。

2.2 复合物的载药量

根据测量得到标准曲线回归方程为 $C_{265} = 0.0583 D_{265} + 0.0142$, $r = 0.999$,其中 C_{265} 、 D_{265} 分别代表在 265 nm 处的浓度及吸光度,根据回归方程计算出载药量为 18.6%。

2.3 复合物的体外降解实验

含 5-FU 的聚乙二醇酯的水解实验分别在 37℃ 下 0.1 mol/L 盐酸,0.1 mol/L 的 NaOH 溶液和 0.1 mol/L、pH 为 7.2 的磷酸盐缓冲液中进行^[9]。

含 5-FU 的聚乙二醇酯容易水解,在磷酸盐缓冲液中,稀盐酸和氢氧化钠水溶液中都可以水解,但在碱性溶液中水解得到的是 5-FU 单体,而在酸性和中性溶液中水解得到的是 5-FU 乙酸,而且水解速率较低,通过实验发现,复合物的水解速率为:碱性溶液 > 酸性溶液 > 中性溶液。当聚乙二醇的相对分子质量达到 2 000 时,在碱性、酸性和中性溶液中的吸光度都是最高的,这可能与聚乙二醇本身的性质有关,当相对分子质量为 2 000 时溶解性最好,分子质量继续增加时高分子链形成缠绕结构,两端的 5-FU 被聚乙二醇链节包裹在其中不利于水解,所以当聚乙二醇相对分子质量为 2 000 时水解速率最高。

参考文献

- [1] Ringsdorf H. Structure and properties of pharmacologically active polymers[J]. Journal of Polymer Science, 1975, 51: 135 - 153.
- [2] 张静夏,潘仕荣,王琴梅,等.5-氟尿嘧啶-聚[(2-羟乙基)-L-谷酰胺]的合成及释药研究[J].中山医科大学学报,2002,23(5): 19 - 21.
- [3] 熊成东,王亚辉,邓先模,等.聚乙二醇衍生物的合成研究进展[J].高分子通报,2000,3(1): 39 - 45.
- [4] Harris J M, Struck E C, Case M G, et al. Synthesis and characterization of poly(ethylene glycol) derivatives[J]. Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition, 1984, 22: 341 - 352.
- [5] 卓仁禧,陈衡生,刘高伟,等.主链含 5-氟尿嘧啶聚酯的合成[J].高分子通讯,1984,3(1): 11 - 15.
- [6] 李爱贵,邓联东,董岸杰.聚乙二醇在新型药物制剂中的应用[J].高分子通报,2004,8(4): 96 - 101.
- [7] 胡喜钢,汪森明,张起兴,等.以磺胺嘧啶为载体的氟尿嘧啶导向药物的合成[J].第一军医大学学报,2002,22(1): 1042 - 1044.
- [8] 朱诚身.聚合物结构分析[M].北京:科学出版社,2004: 116 - 117.
- [9] Ouchi T, Yuyama H, Vogl O. Synthesis of 5-fluorouracil-terminated monomethoxypoly(ethylene glycol)s, their hydrolysis behavior, and their antitumor activities[J]. Journal of Macromolecular Science-Chemistry, 1987, A24(9): 1011 - 1032. ■

“2006 博鳌国际化工新材料产业论坛”将在海南召开

由中国化工集团公司、海南省发改厅、德国德西玛化工协会(DECHEMA)、以及香港汇丰银行等共同发起举办的“2006 博鳌国际化工新材料产业论坛”拟定于 2006 年 11 月在海南省博鳌举行。

本次会议将致力于为中国化工企业参与国际市场竞争,提供信息交流、技术推广和商务活动的综合性国际会议。大会将邀请化工新材料领域的国际跨国公司、国内

知名企业、研究机构的企业代表和商务人士作大会报告和技术推介活动,并邀请政府部门领导和各国化工界重要人士到会发表演讲;会议将设立有机氟硅材料、工程塑料、合成橡胶、膜材料和过程、化工能源战略研究等 8 个化工新材料专题会场。会议详细资料请在中国化工集团公司网站 www.chemchina.com.cn 上查阅。