

# 5-氟尿嘧啶-聚 $\alpha, \beta$ (2-羟乙基)-DL-天冬酰胺的合成 及体内释放的研究

朱卡琳 汤谷平\* 陈启琪 张晓东\*\* 周淑青\*\*

(浙江医科大学药学系, 杭州 310006)

**摘要** 以5-氟尿嘧啶为模型药物,将药物以共价键的形式键合于生物降解型高分子材料聚- $\alpha, \beta$ (2-羟乙基)-DL-天冬酰胺上制成高分子载体药物,药物接入率达37.1%( $w/w$ )。用红外和差热分析法对载体药物进行了表征。以纯种大白兔为实验动物,把载体药物制成混悬型和棒状型两种剂型,进行药物体内释放实验。结果表明:以棒状型药物给药在一定程度上可以降低释药初期的“爆释”现象,为进一步临床应用提供了重要依据。

**关键词** 5-氟尿嘧啶;聚(羟烷基)-DL-天冬酰胺;体内释放;初期爆释

近年来生物降解型高分子载体对药物释放的影响和靶向性高分子药物的研究,已成为医药学领域研究热点。对高分子抗肿瘤药物进行治疗剂量的控制并在病灶部位选择性地释药,将极大提高药物的生物利用度。5-氟尿嘧啶是一种阻止肿瘤细胞的嘧啶类核苷酸形成的抗代谢药物,疗效肯定,并对多种肿瘤有效。单独使用该化疗型抗肿瘤药物,毒副作用大且对生物体肝肾均有损害。实验选用5-氟尿嘧啶(5-Fu)为模型药物,与可生物降解的高分子材料聚 $\alpha, \beta$ (2-羟乙基)-DL-天冬酰胺(poly- $\alpha, \beta$ (2-hydroxyethyl)-DL-asparamide, PHEA),将药物经过氯甲酰化后,以共价键的形式将药物键合于材料上,制得5-氟尿嘧啶-聚- $\alpha, \beta$ (2-羟乙基)-DL-天冬酰胺载体药物(5-fluorouracil)-DL-asparamide, 5-Fu-PHEA)。用红外分析法和差热分析法等对高分子载体药物进行表征。将载体药物制成混悬和棒状两种剂型,进行兔体内释药初期“爆释”现象的实验研究,比较不同剂型对释药初期“爆释”现象的影响。

## 实 验 部 分

**1 仪器和试剂** LC-6A 高效液相色谱仪(日本岛津公司),红外分光光度仪(日本岛津公司),差热分析仪(美国 PE 公司)。DL-天冬氨酸:(CR, 上海化学仪器总厂产品),氨基乙醇(AR, 宜兴市达华厂产品),5-氟尿嘧啶(工业纯,杭州华东制药厂产品),甲醇(高效液相纯,上海关泾化工厂产品)。纯种大白兔由浙江医科大学动物中心提供。

**2 5-Fu-PHEA 的合成** 合成路线见图 1。

在 100 ml 烧瓶中将 5-氟尿嘧啶 1 g 溶于吡啶 15 ml 中,冰浴下将此溶液缓慢滴加到含 30% 光气的苯-甲苯溶液 9 ml 中,冰浴中搅拌反应 1 h,撤去冰浴继续反应 1 h,反应结束后抽去多余的光气,待用。将 PHEA 0.6 g 溶于二甲基甲酰胺 3 ml 中,将此溶液缓缓滴加到上述待用液中,搅拌反应 36 h,反应期间体系温度不得超过 15℃。上述两步反应过程均用薄层色谱板跟踪反应过程,至反应物斑点基本消失。待反应结束后,将瓶内反应液在搅拌下逐滴加到 1 mol·L<sup>-1</sup> HCl 溶液 200 ml 中,有沉淀析出,离心收集沉淀,用蒸馏水反复洗涤沉淀至中性,

收稿日期 1997-08-25

本文为国家自然科学基金资助项目, No 39570219

\* 联系人

\*\* 1992 级药理学系实习生

再分别依次用无水乙醇、丙酮各洗涤数次,以除去未反应的 5-Fu。用真空泵抽干,得淡黄色粉末。

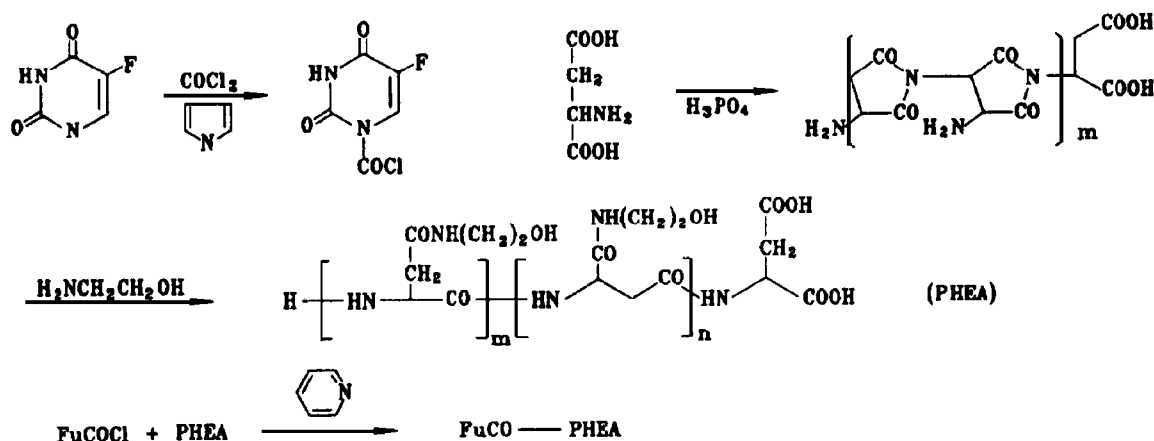


Fig 1 Route of synthesis of 5-fluorouracil-*DL*-asparamide(5-Fu-PHEA).

### 3 5-Fu-PHEA 的表征

**3.1 PHEA 分子量的测定** 用特性粘度法和凝胶色谱法分别测定 PHEA 的特性粘滞系数  $[\eta]$ 和相对分子量。用文献报道<sup>[1]</sup>的 PHEA 的 Mark. HouwinK 方程式计算其  $\bar{M}_n$  约为  $1.14 \times 10^5$ 。同时用凝胶色谱法以标准葡聚糖为相对分子量标准,测得分子量约为  $1.08 \times 10^5$ 。

**3.2 5-Fu-PHEA 的红外测定** 结果见图 2。

由图 2 可知, b 与 a 相比在 1700~1800

$\text{cm}^{-1}$ 范围有 3 个  $\text{-C=O}$ -基的强振动吸收峰,其中  $1790 \text{ cm}^{-1}$ (s)是药物键合于高分子材料上的  $\text{-C=O}$ -吸收峰,  $1760$ (s)和  $1735$ (s)  $\text{cm}^{-1}$ 为  $\text{-C=O}$ -的吸收峰,  $1530 \text{ cm}^{-1}$ 为  $\beta_{\text{NH}}$ 的吸收峰,由此可知 5-氟尿嘧啶以共价键形式已被接入到高分子材料上。

**3.3 5-Fu-PHEA 的差热分析** 结果见图 3。

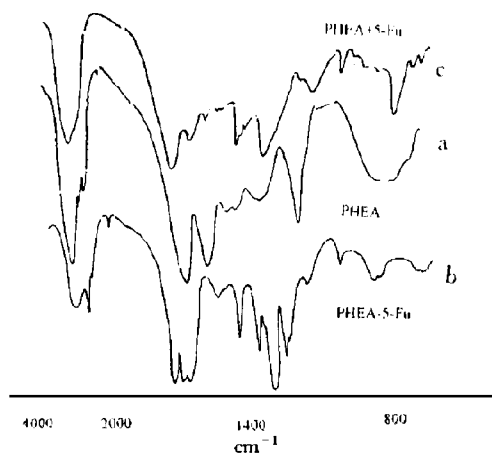


Fig 2 The IR spectrum of 5-fluorouracil-poly- $\alpha, \beta$ -(2-hydroxyethyl)-*DL*-asparamide (5-Fu-PHEA).

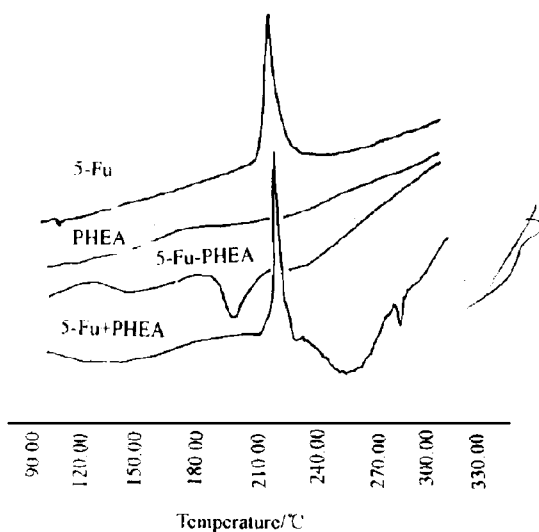


Fig 3 Differential scanning calorimetry(DSC) spectrum of 5-Fu-PHEA.

由图 3 可知,4 条差热曲线完全不同,由此可知药物 5-Fu 已键合于高分子材料上,以区别包埋形式。

#### 4 5-Fu-PHEA 接入率的测定

按文献<sup>[2]</sup>报道的方法对药物接入率进行测定,得接入率为 37.1% (w/w) (n = 3, S = ±2.5)。

#### 5 5-Fu-PHEA 兔体内释放的研究

**5.1 剂型和动物** 选择接入率为 37.1% 的 5-Fu-PHEA 载体药物,分别制成混悬液和棒状两种剂型。混悬液:称取 5-Fu-PHEA 约 60 g 4 份,分别溶于精制麻油 1 ml 和苯甲酸苄酯 1 ml 的混合液中,将混悬液注射于兔左侧大腿肌;棒状剂:称取 5-Fu-PHEA 约 60 g 4 份,分别置于不锈钢模具中,在 50 kg·cm<sup>-2</sup> 的压力下压制成直径约 3 mm,长度约 5 mm 的透明状棒剂,经紫外线照射消毒后埋植于兔背部皮下。

大白兔 8 只,雌雄不限,重量均在 2.5 kg 左右,随机分成两组,一组肌注,一组埋植。动物分笼饲养,给药 24 h 后每隔一定时间耳部采

血,备用,分别进行肝、肾功能,血象及体内血药浓度的测定。

**5.2 标准曲线的建立** 精密称取 5-Fu 标准品 20.88 mg,溶于 100 ml 量瓶中,用流动相稀释至刻度,得浓度为 0.2088 mg·ml<sup>-1</sup> 的标准液,分别吸取 0.10, 0.20, 0.30, 0.40, 0.50 ml 标准液至 100 ml 量瓶中,并加兔血浆 0.4 ml,摇匀,过滤,用高效液相色谱进行测定,得标准曲线为  $A = 1.770 \times 10^2 + 2.651 \times 10^3 C$  ( $\gamma = 0.999, n = 5$ )。

**5.3 色谱条件的建立** 预柱为 4 mm ID × 5 cm,内填 100~120 目 GDX-102,分析柱为 C<sub>18</sub> 柱 250 mm × 4.6 mm,检测波长为 265 nm,分析流动相为甲醇—水 (6 : 4),流速为 0.4 ml·min<sup>-1</sup>。

**5.4 回收率的测定** 选取浓度为 0.4176, 0.6264 及 0.8352 μg·ml<sup>-1</sup> 的标准溶液,分别加到空白血浆体系中进行回收率测定,得回收率分别为 92.1% ± 1.82%, 91.7% ± 1.27% 及 96.5% ± 1.56 (n = 3) (图 4, 图 5)。

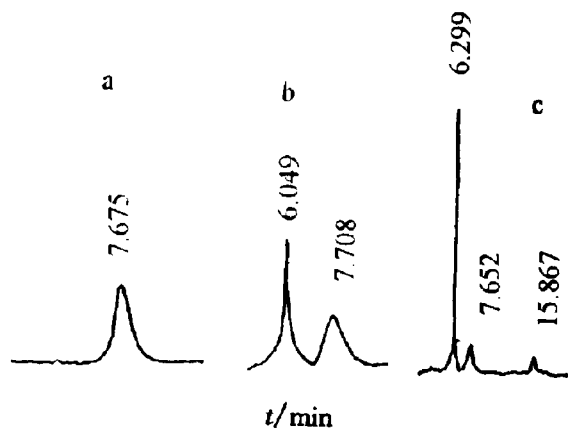


Fig 4 The HPLC profiles of 5-fluorouracil (5-Fu). a. The standard of 5-Fu; b. The standard of 5-Fu in rabbit plasma; c. The sample of 5-Fu in rabbit plasma.

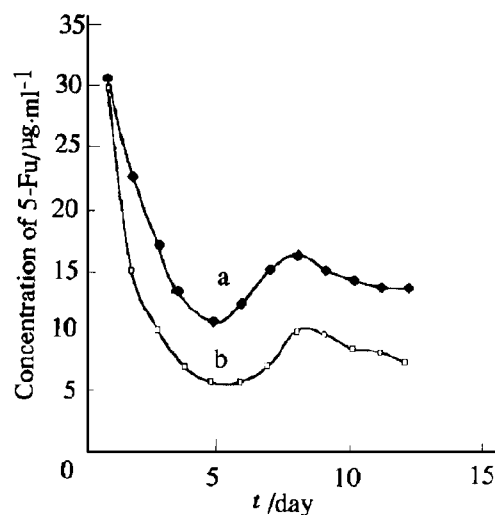


Fig 5 The release profiles of 5-Fu in rabbit (drug loading is 37.1%). a. Release of 5-Fu in suspension; b. Release of 5-Fu from the rod form of preparation.

### 讨 论

由图 5 可知,以棒状剂型在释放初期的释药量比混悬液剂型小。控释药物初期的“爆释”

已引起国内外学者的广泛关注,释药初期高于所需血药浓度数倍量的“爆释”浓度,往往会加重肝肾器官的负担,并引起不良反应。已有多

种方法试图对此现象进行控释。Yasuhiko Tabata<sup>[3]</sup>用 w/o 乳液法制得聚乳酸低聚材料对蛋白质释入可起保护作用,并可减少初期“爆释”。此外将药物压制成棒状或制成一定粒径的微球,并在棒剂和微球表面涂布“保护层”如明胶、虫胶等隔绝材料,使药物在酶或体液作用下发生降解释放前,先有一个缓慢渗透过程,从而减少“爆释”。以棒状埋植给药,释药过程从外到里逐层释药,加上药物与材料不是包埋结合而是以化学键相结合,在一定程度上阻止了药物与酶或体液接触。因此棒状剂给药较混悬剂给药缓解了释药速度。对聚(羟烷基)-DL-天冬酰胺的研究已有不少报道<sup>[4~7]</sup>,该材料是一种可用于肺内控释的水溶性高分子材料<sup>[8]</sup>。本研究结果表明,将该材料与抗肿瘤药物 5-Fu 键成高分子载体药物在兔体内有良好的控制释药性能,且在释药过程中能较好地维持有效血药浓度。

### 参 考 文 献

1 Antoni G, Neri P, Pedersen TG, *et al.* Hydrodynamic properties of a new plasma expander:

polyhydroxyethyl asparamide. *Biopolymers*, 1974, **13**:163

2 陈启琪,刘向东,单达先,等. 氟尿嘧啶-聚天冬酰胺复合物的合成. 中国药物化学杂志, 1993, **3**:163

3 Tabata Y, Takebayashi Y, Ueda T, *et al.* A formulation method using D, L-lactic acid oligomer for protein release with reduced initial burst. *J Controlled Release*, 1993, **23**:55

4 Ralph W, Niven, Pypacek F, *et al.* Solute absorption from the airways of the isolated rat lung (III). Absorption of several peptidase resistant synthetic polypeptides: poly-(2-hydroxyethyl)-aspartamides. *Pharm Res*, 1990, **7**:990

5 Giammona G, Carlisi B, Carallaro G, *et al.* A new water-soluble synthetic polymer  $\alpha$ ,  $\beta$ -polyasparthydrazide, as potential plasma expander and drug carrier. *J Controlled Release*, 1994, **29**:63

6 Filipovic J, Gric D, Maysinger B, *et al.* Macromolecular prodrugs (IV). Alginate-chitosan microspheres of PHEA-L-dopa adduct. *Int J Pharm*, 1995, **116**:39

7 Claudia S, Leopold, David R, *et al.* *In vitro* study for the assessment of poly(L-aspartic acid) as a drug carrier for colon-specific drug delivery. *Int J Pharm*, 1995, **126**:139

8 曾宪明,李涛. 肺内控释给药系统的研究现状及前景. 国外医学-合成药. 生化药. 制剂分册, 1995, **16**:297

## PREPARATION OF 5-FLUOROURACIL-POLY- $\alpha$ , $\beta$ (2-HYDROXYETHYL)-DL-ASPARAMIDE AND *IN-VIVO* RELEASE IN RABBIT

Zhu Kaling(Zhu KL), Tang Guping(Tang GP), Chen Qiqi(Chen QQ),  
Zhang Xiaodong(Zhang XD) and Zhou Shuqing(Zhou SQ)

(Zhejiang Medical University, Department of Pharmacy, Hangzhou 310006)

**ABSTRACT** A polymer release drug was prepared by poly- $\alpha$ ,  $\beta$ -(2-hydroxyethyl)-DL-asparamide(PHEA) and 5-fluorouracil. As a model drug 5-fluorouracil was conjugated into the biodegradable polymer by chemical bond. The released drug was determined to be about 37.1% ( $w/w$ ) and it was characterized by IR spectrum and differential scanning calorimetry (DSC). Two forms of drugs, rod and suspension were prepared and *in vivo* release experiment were carried out in rabbits. The experimental result showed that the rod form of drug can in some degree reduce initial burst.

**KEY WORDS** 5-Fluorouracil; Poly- $\alpha$ ,  $\beta$ (hydroxyalkyl)-DL-asparamide; *In vivo* release; Initial burst