中国科学（B 辑）
第 28 卷 第 1 期 SCIENCE IN CHINA (Series B) 1998 年 2 月

# 含磺胺嘧啶和 DTPA 端基 PEO 的合成及在肿瘤中的富集*

黄骏廉① 陈 胜① 谈立松② 王海原①
（①复旦大学高分子科学系，上海 200433；②上海第一肺科医院，上海 200433）

**摘要** 用带 4-胺基-N-(2-嘧啶)苯磺酰胺(APBS)和羟端基的聚氧化乙烯(PEO)为母体，经过功能化反应后，合成了端基为 APBS 和二乙撑三胺五乙酸(DTPA)的聚氧化乙烯($PEO_{a\text{-}d}$)．当把 $PEO_{a\text{-}d}$ 和放射性同位素 $^{153}Sm$ 和 $Tc^{99}$ 络合，然后注入接种了 Sarcoma-180 肿瘤的昆明小白鼠体内后，γ-计数器的测定结果表明，该高分子药物能够在肿瘤组织中富集，其在肿瘤中的浓度和在肝、心、肾、肌肉、血和骨髓中的浓度比为 2.3:1 至 10:1.

**关键词** 聚氧化乙烯 4-胺基-N-(2-嘧啶)苯磺酰胺 二乙撑三胺五乙酸 抗肿瘤药物 导向作用

具有抗肿瘤活性的高聚物的研究，近年来引起了人们极大的兴趣和关注．除了蛋白质、抗体、干扰素和激素等天然高分子以外，人工合成高分子在抗肿瘤药物领域中的应用主要有以下 3 个方面：(1) 高聚物本身具有抗肿瘤活性，可直接制成药剂使用．例如 NED137 是一种乙烯和马来酸酐的共聚物，侧链上带有羧基和酰胺键，有抗肿瘤作用[1]；(2) 以聚合物为载体，通过化学反应接上小分子药物，如 DIVEMA-MIX，就是一种以二乙烯基醚和马来酸酐共聚物为载体，接了小分子抗肿瘤药物环磷酰胺后制得的高分子药物[2,3]；(3) 以高聚物作为小分子抗肿瘤药物的包囊，如用聚乙烯醇包裹 5-氟尿嘧啶制成的微球，具有缓释作用，可用于治疗肝癌[4]．这些高分子药物除了具有释放周期长、毒性小等特点外[5]，其药理性能和小分子药物并没有什么不同，它们和肿瘤组织间也没有什么特殊的相互作用．

众所周知，肿瘤细胞和正常细胞在结构和物理化学性能上是极其相似的．一些器官如肝脏等对化学药物的吸收，一般要大于肿瘤组织．因此，设计和合成只对肿瘤组织有作用，不影响或者很少影响正常组织的新型有导向性的药物，一直是世界各国科学家为之奋斗的目标．

针对小分子药物改性中存在的问题[6]，我们提出了把抗肿瘤药物和有导向功能的化合物接在高分子链两端，利用高分子链构象的多样性来屏蔽和减弱小分子间强烈的相互作用的观点[7]．我们合成了一系列具有不同结构的导向化合物和抗肿瘤药物的高分子，并对它们的药理性能和药代动力学进行了研究．$PEO_{a\text{-}d}$ 的合成成功和动物试验的结果，只是我们系列工作中的一部分，但前景是十分令人鼓舞的．

1997-02-18 收稿，1997-06-04 收修改稿
* 国家自然科学基金资助项目(批准号：29444003)、国家教育委员会高等院校博士点基金和上海市科学技术发展基金资助项目

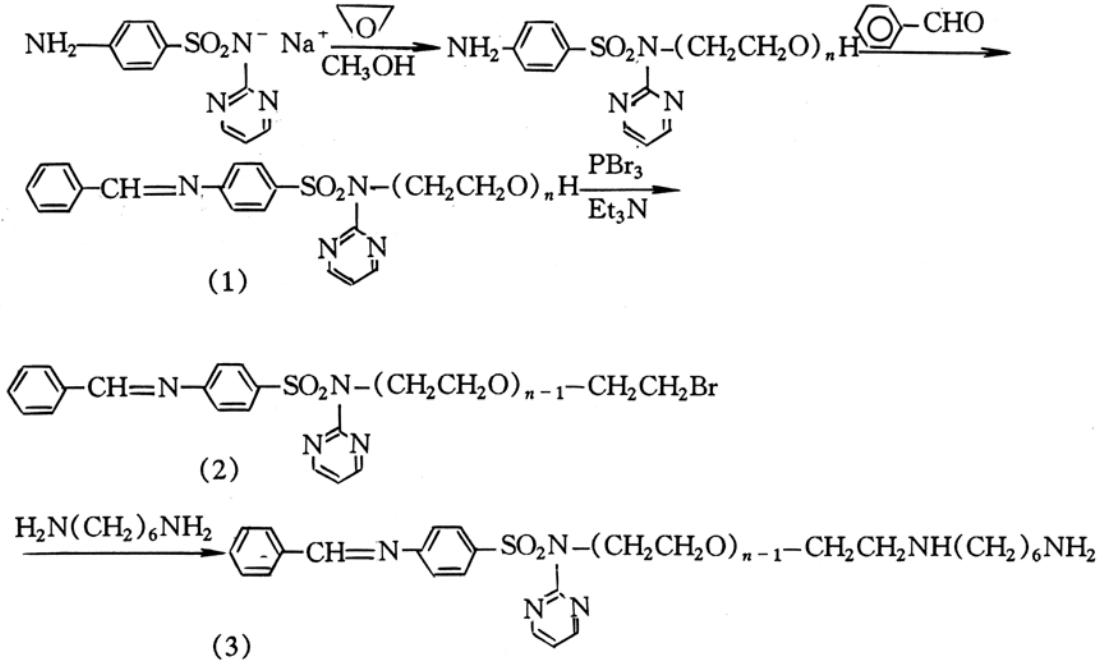
# 1 实验

## 1.1 材料

苯甲醛(江苏宜兴助剂厂,AR)用氯化钙干燥2 d,然后减压蒸馏,收集 96℃/5×133.322Pa 的馏分,折光率 $n_D^{20}$:1.542 7;三溴化磷(Merck-Schuchardt)未经处理,直接使用;己二胺(上海亭新化工厂)在氮气气氛中升华纯化 1 次,熔点:41～42℃;二乙撑三胺五乙酸(上海试剂总厂,CP),真空干燥2 d后使用;$^{153}SmCl_2$ 和 $^{99}TcCl$ 分别为北京同位素公司和上海同位素服务中心产品;其他所有溶剂都用标准方法纯化. 接种了 Sarcoma-180 肿瘤的昆明小白鼠由上海医药工业研究院提供,所有的小白鼠在接种时均为 6～8 星期大.

## 1.2 带己二胺和 4-胺基-N(2-嘧啶)苯磺酰胺(APBS)端基聚氧化乙烯(3)的合成

APBS 引发环氧乙环开环聚合[8]以及聚合物(3)的合成1)可见文献报道,其分子量约为 1 750,其合成过程可用下列方程式表示:

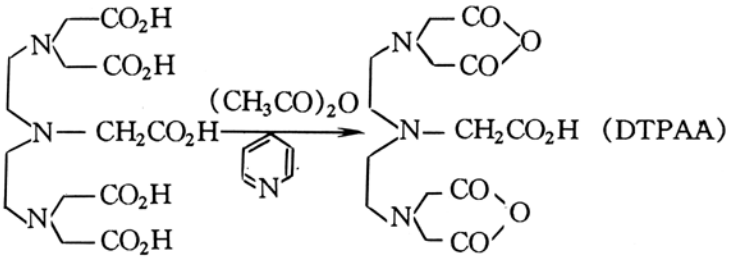



## 1.3 二乙撑三胺五乙酸酐(DTPAA)的制备[9]

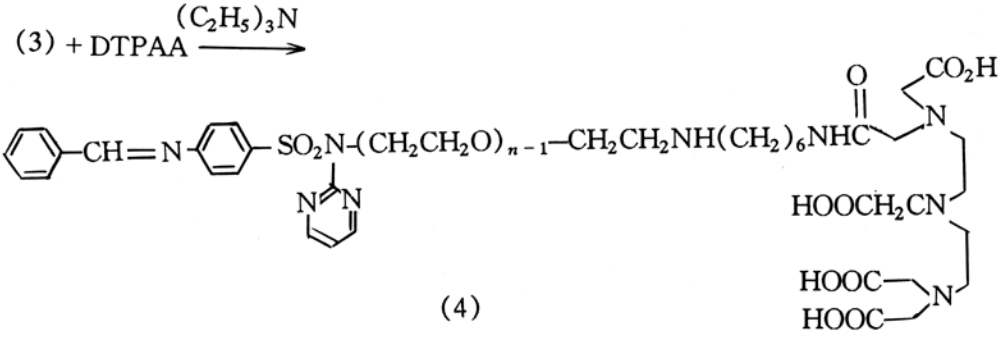
19.75 g(0.05 mol)干燥的 DTPA,溶解在 25.5 mL 的吡啶中,然后边搅拌边加入 37.8 mL 的乙酸酐,在 65℃反应 24 h. 经过滤后的产物为白色固体,用乙醚反复淋洗,直至看不出有粘稠的白色液体为止. 干燥衡重后产物重 15.1 g,产率约 84%. 分解温度:178～179℃;IR:1 825和 1 780 $cm^{-1}$为酸酐的特征吸收,与文献报道的完全一样[10].

---

1) Huang Junlian, Chen Shen, Jia Xinqiao, et al. Funotionization of polyethylene oxide with 4-amino-N-(2-pirimidinyl) benzene sulfonamide at one end. J Polym Sci, Part A: Polym Chem (submitted)

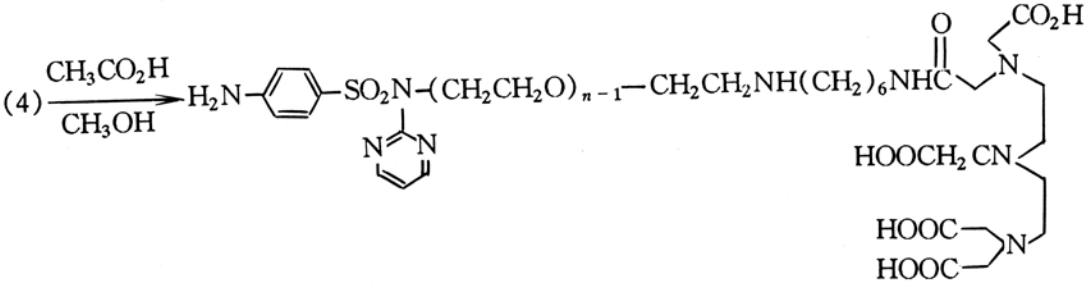



### 1.4　DTPAA 和聚合物(3)的反应




21.5 g DTPAA 溶于 75 mL 95% 的乙醇，然后加入到 250 mL 的三口瓶中，再加入 6 g 三乙胺，开始搅拌并加热回流，然后滴加溶有 22.5 g 聚合物(3)(约 0.012 mol)的 50 mL 95% 的乙醇，2 h 加完，继续回流 15 h．反应结束后将反应物冷至室温过滤，滤液浓缩至一半后，加入 5 倍体积的乙醚，有黄色沉淀生成．过滤出的聚合物可用氯仿/乙醚通过溶解、沉淀进行纯化，产率为 70%．IR($cm^{-1}$) 1 735(－COOH)；$^1H$ NMR ($\delta$)：11.5(－COOH)．

### 1.5　聚合物(4)APSB 端基的去保护




11.5 g 聚合物(4)溶解在 80 mL 乙酸-甲醇(体积比为 1:1)混合溶剂中，搅拌，室温酸解 24 h，然后在乙醚中沉淀，产物用氯仿/乙醚通过溶解/沉淀进行纯化，产率为 85%．IR($cm^{-1}$)：3 423，3 345($NH_2$ 与苯环共轭)；$^1H$ NMR ($\delta$)：3.21(与苯环共轭的 $NH_2$)．

### 1.6　聚合物(5)($PEO_{a\text{-}d}$)与放射性同位素的络合及标记率的测定

$PEO_{a\text{-}d}$ 0.2 g 溶于 10 mL 去离子水，然后分别注入 1 mL 放射性同位素氯化钐或氯化锝的水溶液，此时溶液的 pH 值为 3 左右，用 0.1 mol/L NaOH 调至溶液的 pH 值至 7～8 后备用．

同位素的标记率用薄层放射色谱进行(层析材料：尼龙-6 薄膜，8 cm×8 cm，浙江黄岩四青生化材料厂；层析液：去离子水)．$PEO_{a\text{-}d}$与$^{153}Sm$ 和$^{99}Tc$ 的标记率分别为 95.7% 和 95%．

### 1.7 动物实验

在接种了 Sarcoma-180 肿瘤的昆明小白鼠体内,通过腹腔,分别注入浓度为 0.02 g/mL 标记了$^{153}$Sm 和$^{99}$Tc 的 $PEO_{a\text{-}d}$溶液 3 mL 和 2 mL,然后在不同时间取出各种动物器官称重并用 γ-计数器计数,每一个实验点做 4 个动物,取平均值.

### 1.8 测试和仪器

IR 光谱用 Nicolet Magna-550 FTIR 光谱仪记录; $^1$H NMR 谱用 MSL-300 核磁共振谱仪测得,TMS 为内标,$CDCL_3$ 和 DMSO-$d_6$ 为溶剂;聚合物的分子量用带微机的岛津 LC-3A 高效凝胶色谱仪(GPC)测量,单分散的聚苯乙烯为标样,测试条件如上所示. 吸收了药物后动物组织的放射剂量用 FMJ-II 型 γ-计数器(上海实验仪器厂生产)测得.

## 2 结果与讨论

### 2.1 动物实验结果

表 1 列出了 $PEO_{a\text{-}d}$分别和$^{153}$Sm 及$^{99}$Tc 络合后注入小白鼠体内 6 h 后药物分布的实验结果. 无论 $PEO_{a\text{-}d}$是和$^{153}$Sm 还是和$^{99}$Tc 络合,从表中可以看出,除了肾脏以外,$PEO_{a\text{-}d}$在肿瘤中的浓度都要高于在器官中的浓度. 而空白实验,即当 $PEO_{a\text{-}d}$不存在时的实验结果表明,在同样的条件下,除了个别情况以外,在器官中的放射性剂量一般要大于在肿瘤中的剂量,这和一般小分子抗肿瘤药物在动物体内的分布规律是一致的,即除个别特殊情况外,肿瘤组织中药物的浓度要低于肝脏等器官中的浓度. 因此,动物实验的结果证实了带 APBS 端基的 PEO,确实能够在肿瘤组织中富集.

表 1 注射 6 h 后和$^{153}$Sm 络合的 $PEO_{a\text{-}d}$在小白鼠体内的分布

| 器官 | 放射性的计数率[a] $\times 10^{-5}$/计数·min$^{-1}$·g$^{-1}$ | | | | 肿瘤和器官中放射性的计数比 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 空白[b] | 空白[c] | $^{153}$Sm | $^{99}$Tc | 空白[b] | 空白[c] | $^{153}$Sm | $^{99}$Tc |
| 心 | 4.01 | 8.41 | 0.91 | 4.05 | 0.97 | 1.05 | 7.13 | 4.88 |
| 肝 | 6.79 | 12.33 | 2.83 | 7.66 | 0.56 | 0.72 | 2.29 | 2.58 |
| 脾 | 3.11 | 9.24 | 1.84 | 3.37 | 1.25 | 0.96 | 3.53 | 5.86 |
| 肾 | 19.45 | 30.52 | 27.22 | 32.01 | 0.20 | 0.29 | 0.24 | 0.62 |
| 肌肉 | 3.94 | 6.53 | 1.05 | 3.84 | 0.99 | 1.36 | 6.18 | 5.14 |
| 血液 | 3.69 | 10.21 | 0.66 | 5.73 | 1.05 | 0.87 | 9.83 | 3.45 |
| 骨髓 | 5.02 | 11.69 | 0.88 | 4.72 | 0.77 | 0.76 | 7.37 | 4.18 |
| 肿瘤 | 3.89 | 8.85 | 6.49 | 19.75 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |

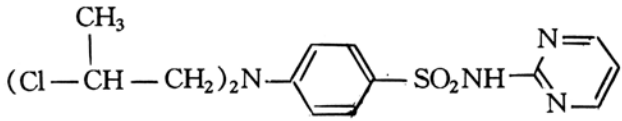
a) 在相同条件下 4 个小白鼠实验数据的平均值

b) 纯$^{153}SmCl_2$ 注入小白鼠体内(本底计数率为 954 mC/min)

c) 纯$^{99}$TcCl注入小白鼠体内(本底计数率 804 mC/min)

### 2.2 $PEO_{a\text{-}d}$中磺胺嘧啶导向功能的保留

磺胺类药物能够在肿瘤中富集早在 50 年代就有人报道过[8],Abel 等人试图把磺胺嘧啶的导向功能引入抗肿瘤药物中,他们合成了有如下结构的带抗肿瘤药物氮芥的磺胺嘧啶,但是这种药物却失去了在肿瘤中富集的能力[6]. 从 70 年代至今,近 30 年的时间内,有关小分子磺胺嘧啶改性后会导致其在肿瘤中富集能力丧失这个问题始终没有得到解决[9],而我们合成的



$PEO_{a\text{-}d}$则解决了这个问题．$PEO_{a\text{-}d}$有这样几个特点：(1) 从其进入动物体内一直到代谢结束，并通过肾脏排出体外这段时间内，除肾脏外，其在肿瘤中的浓度始终高于在器官中的浓度，图 1 描述了在 48 h 内，$PEO_{a\text{-}d}$在肝脏、骨髓和肿瘤中的分布情况，很明显，$PEO_{a\text{-}d}$在肝脏和骨髓中的浓度始终小于在肿瘤中的浓度；(2) $PEO_{a\text{-}d}$在骨髓中有较低的浓度，这在临床治疗上有很大的意义．由于小分子抗肿瘤药物进入体内后，在骨髓中有较大的浓度，会对其造成很大的伤害，影响其造血功能，因此，临床上对小分子抗肿瘤药物的用量有严格的限止，但这同时也影响了对肿瘤的治疗．而 $PEO_{a\text{-}d}$在骨髓中的低浓度，则可使医生免有后顾之忧，增加其对肿瘤病人的用量，达到治疗的目的；(3) 小分子磺胺嘧啶的血浆半衰期为 17 h[13]，而 $PEO_{a\text{-}d}$的半衰期要大于 48 h，这说明 $PEO_{a\text{-}d}$有缓释功能．

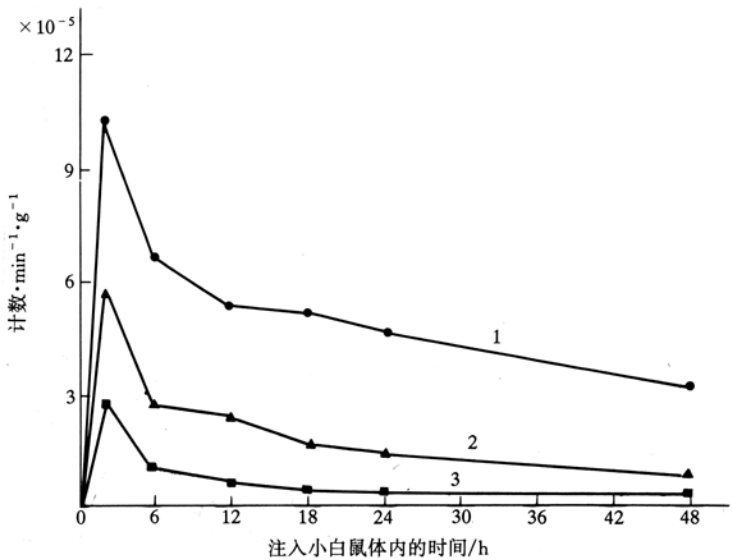



图 1　$PEO_{a\text{-}d}$在肝脏、骨髓和肿瘤中随时间的分布

1 为肿瘤，2 为肝脏，3 为骨髓

## 3　结论

带 4-胺基-N-(2-嘧啶)苯磺酰胺和二乙撑三胺五乙酸端基的聚氧化乙烯，在和同位素 $^{153}Sm$和$^{99}Tc$ 络合后，能在接种了 Sarcoma-180 肿瘤的昆明小白鼠的肿瘤组织中富集，其在肿瘤中的浓度和在肝、心、肾、肌肉、血和骨髓中的比为 2.3∶1 至 10∶1，这在临床治疗上具有很大的意义．

# 参 考 文 献


1 Fields J E, Johnson J H. Monsanto Company, St Louis US Patent, 4 255 537. 1981-03-10

2 Butler J B. Recent developments in polymerization by an alternating intra-intermolecular mechanism. J Polym Sci, 1960, 48: 279～289

3 Hirano T, Klesse W, Ringsdorf H. Polymeric derivatives of activated cyclophosphamide as drug delivery systems in antitumor chemotherapy. Makromol Chem, 1979, 180: 1 125～1 131

4 魏树礼,高智慧. 控释缓释微球制剂的研究进展. 中国医药工业杂志, 1990, 21(1): 29～32

5 Ringsdorf H. Structure and properties of pharmacologically active polymers. J Polym Sci Symp, 1975, 51: 135～153

6 Abel G, Connors T A, Ross W C J, et al. The selective concentration of sulfadiazine and related compound in malignant tissue. Europ J Cancer, 1973, 9: 49～54

7 Huang J L, Wang H Y, Zhou C L. Ring-opening polymerization of ethylene oxide by anion initiation using sulfadiazine as parent compound. J Appl Polym Sci, 1995, 58(1): 11～18

8 黄骏廉,王海原. 4-胺基-N-(2-嘧啶)苯磺酰胺钠盐引发环氧乙烷的开环聚合反应以及微量水对聚合反应的影响. 中国科学, B辑, 1996, 26(3): 214～220

9 Eckelman W C, Karesh S M, Reba R C. New compound of fatty acid and long chain hydrocarbon derivatives containing a strong chelalting agent. J Pharm Sci, 1975, 64: 704～706

10 Hanatowich D J, Layne W W, Childs R L. The preparation and labeling of DTPA-coupled albumin. J Appl Rad Isot, 1982, 33: 327～332

11 Stevens C D, Quinlin P M, Meinken M A, et al. Sulfapyrazine precipitated in cancer tissue upon repeated glucose injections. Science, 1950, 112: 561～562

12 Bartulin J, Przybylski M, Ringsdorf H, et al. Pharmacologically active polymers, 6) sulfadiazine and boron derivatives as potential carriers for polymers into cancer tissue. Makromol Chem, 1974, 175: 1 007～1 010

13 竺心影. 药理学. 北京: 人民卫生出版社, 1987. 298