

## 高分子药物研究

### XVII. 二羟烷基嘧啶与 N,N'-双(2-氯乙基) 二氯磷酰胺缩聚物的合成及其 抗肿瘤活性研究\*

周念恩 陈衡生 卓仁禧  
(武汉大学化学系, 武汉)

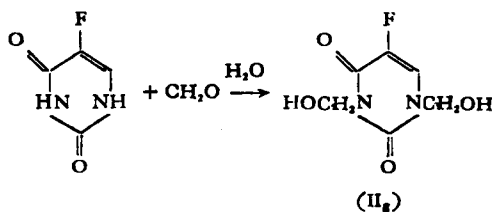
#### 摘 要

本文通过七种二羟烷基嘧啶单体与 N, N'-双(2-氯乙基)二氯磷酰胺进行缩聚反应, 制得了七种新的含核酸碱基或其类似物和氮芥的聚磷酸酯, 用核磁、红外光谱及元素分析确定了单体和聚合物的结构。部分聚合物试验结果表明, 既含氮芥又含 5-氟尿嘧啶的聚合物具有较高的抗癌活性和较低的毒性, 聚合物 (III<sub>a</sub>) 对小鼠艾氏腹水癌的抑制率可达 66%。

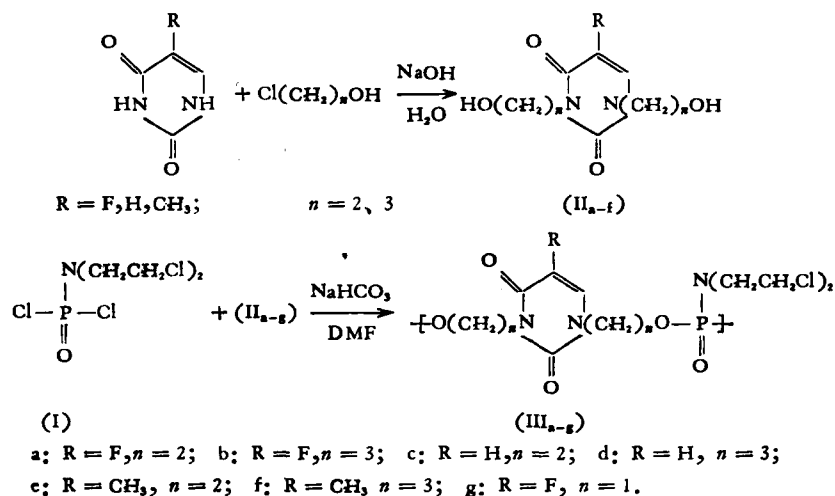
**关键词** 高分子药物、聚磷酸酯、抗肿瘤、5-氟尿嘧啶、氮芥

前文中我们以癌症的临床联合化疗原则为基础, 通过分析两类抗癌药物(生物烷化剂和抗代谢药物)的作用机理, 提出了将两种不同作用机理的抗癌活性基团引入同一聚合物这一新的设想, 设计合成了含核酸碱基及类似物和氮芥的聚磷酸酯<sup>[1]</sup>。我们考虑到 1, 3-二羟烷基-5-氟尿嘧啶 (II<sub>a,b,c</sub>) 具有较强的抗肿瘤活性<sup>[2]</sup>。本文报道以核酸碱基的另一类二羟烷基的衍生物, 1, 3-二羟烷基-5-氟尿嘧啶 (II<sub>a,b,c</sub>)<sup>[2]</sup>, 1, 3-二羟烷基尿嘧啶 (II<sub>c,d</sub>), 1, 3-二羟烷基胸腺嘧啶 (II<sub>e,f</sub>) 分别与 N, N'-双(2-氯乙基)二氯磷酰胺 I<sup>[3]</sup> 在无水碳酸氢钠的存在下, 于二甲基甲酰胺溶液中进行缩聚反应, 制得了七种新的含核酸碱基或其类似物和氮芥的聚磷酸酯 (III<sub>a-g</sub>)。合成路线如下:

用核磁、红外光谱及元素分析确定了单体和聚合物的化学结构, 进行了部分聚合物的



\* 1985年4月23日收到;曾在第30届 IUPAC 国际高分子讨论会上宣读(1985年8月,荷兰,海牙)



抗动物肿瘤试验。结果表明, 既含氮芥又含 5-氟尿嘧啶的聚合物具有较高的抗肿瘤活性和较低的毒性, 聚合物 (III<sub>a</sub>) 对小鼠艾氏腹水癌的抑制率可达 66%。

## 实 验 部 分

### 单体的合成

(1) N, N-双(2-氯乙基)二氯磷酸胺 (I) 按任云峰方法<sup>[3]</sup>制备, mp: 52—53°C (文献值 53—55°C)。

(2) 1, 3-二羟乙基尿嘧啶 (II<sub>c</sub>) 按 Reznik<sup>[4]</sup> 方法合成, mp: 151—152°C (文献值 152.5—153°C)。

1, 3-二羟乙基-5-氟尿嘧啶 (II<sub>a</sub>)<sup>[2]</sup>, 1, 3-二羟丙基-5-氟尿嘧啶 (II<sub>b</sub>)<sup>[2]</sup>, 1, 3-二羟丙基尿嘧啶 (II<sub>d</sub>), 1, 3-二羟乙基胸腺嘧啶 (II<sub>e</sub>), 1, 3-二羟丙基胸腺嘧啶 (II<sub>f</sub>) 参照上述方法合成。1, 3-二羟甲基-5-氟尿嘧啶按文献 [2] 方法合成。单体 II<sub>a</sub>、II<sub>b</sub>、II<sub>d</sub>、II<sub>f</sub>、II<sub>g</sub> 经柱层析分离 (60—100 目硅胶柱)。单体 (II<sub>a-f</sub>) 的产率、淋洗剂、元素分析数据列于表 1。

### 聚合物的合成

在装有恒压滴液漏斗 (连接氯化钙干燥管) 的三角锥瓶中放置 0.01mol 单体 (II) 和

表 1 单体 (II<sub>a-g</sub>) 的产率、淋洗剂和元素分析数据

单体	产率 (%)	熔点 (°C)	淋洗剂	元素分析					
				实测值 (%)			计算值 (%)		
				C	H	N	C	H	N
II <sub>a</sub>	61.9	胶状物	丙酮	43.76	5.09	12.55	44.04	5.05	12.84
II <sub>b</sub>	56.9	胶状物	苯+乙醇 (4:1)	48.24	5.62	11.86	48.78	6.10	11.38
II <sub>c</sub>	55.0	151—152		47.84	5.99	13.81	48.00	6.00	14.00
II <sub>d</sub>	70.1	胶状物	丙酮	51.72	6.84	12.20	52.63	7.02	12.28
II <sub>e</sub>	49.1	99—102		49.94	6.73	13.15	50.47	6.54	13.08
II <sub>f</sub>	53.7	胶状物	丙酮	54.30	7.04	11.31	54.55	7.44	11.57
II <sub>g</sub>	63.0	胶状物	丙酮	37.84	4.27	14.67	37.89	3.68	14.74

10ml 二甲基甲酰胺, 加入 0.02mol 无水碳酸氢钠, 搅拌 30min 后, 室温滴加 10ml 含有 2.58g (0.01mol) 单体 (I) 的二甲基甲酰胺溶液, 在 25—30°C 搅拌反应 30 小时后, 过滤除去不溶物, 减压蒸去溶剂后, 用乙醇溶解残留物, 滤去不溶物后倒入乙醚中成胶状沉淀, 在 80—100°C 真空干燥得聚合物 (III), 称重计算产率。

聚合物 (III<sub>a-g</sub>) 的产率、特性粘度、数均分子量及元素分析数据列于表 2。

表 2 聚合物的产率、特性粘度、数均分子量及元素分析数据

聚合物	产率 (%)	[ $\eta$ ]* (ml/g)	$\bar{M}_n^{**}$ $\times 10^{-3}$	元素分析							
				实测值 (%)				计算值 (%)			
				C	H	N	Cl	C	H	N	Cl
III <sub>a</sub>	86.6	8.5	3.3	34.62	5.76	9.58	16.69	34.2	4.50	9.90	16.82
III <sub>b</sub>	81.0	8.6	3.7	36.09	5.53	9.07	15.22	37.33	5.11	9.33	15.77
III <sub>c</sub>	83.3	9.7	3.6	34.94	5.25	9.65	17.05	35.64	4.95	10.40	17.57
III <sub>d</sub>	81.8	9.3	4.7	38.48	5.57	9.24	16.66	38.88	5.56	9.72	16.43
III <sub>e</sub>	87.5	8.9	4.3	38.61	6.17	9.22	16.97	37.32	5.26	10.05	16.99
III <sub>f</sub>	88.8	7.1	3.4	38.89	6.55	8.60	14.84	40.36	5.83	9.42	15.92
III <sub>g</sub>	87.0	6.7	2.8	30.76	4.11	10.28	17.78	30.46	3.81	10.66	18.02

\* 特性粘数 (30°C, H<sub>2</sub>O); \*\* 数均分子量动态渗透压测定 (30°C, DMF)。

## 结果与讨论

### 1. 单体的化学结构

单体 II 的化学结构以 II<sub>c</sub> 为例说明: 1, 3-二羟乙基尿嘧啶在 *d*<sub>6</sub>-DMSO 中质子的化学位移 (ppm) (图 1a) 为:  $\delta 7.56(d, 1H, J = 8Hz, C^6H)$ 、 $\delta 5.62(d, 1H, J = 8Hz, C^4H)$ 、 $\delta 4.56(b, 2H, OH)$ 、 $\delta 3.65(m, 8H, NCH_2CH_2O)$ , 加 D<sub>2</sub>O 后  $\delta 4.56$  处的羟基峰消失。在单体 II 中只保留了尿嘧啶环 6 位氢、环 5 位氮, 而 1、3 位氢都消失了, 同时出现了单体 II<sub>c</sub> 结构式中的其它氢, 与单体 II<sub>c</sub> 的结构相符。另一方面从单体 II<sub>c</sub> 和其原料尿嘧啶的红外光谱(图 2) 可见, 在 1, 3-二羟乙基尿嘧啶的红外光谱图中, 尿嘧啶环上 NH 基在 3100、840 和 815cm<sup>-1</sup> 处的吸收峰完全消失, 而环上 C=O 基在 1675cm<sup>-1</sup> 处的吸收峰依然存在, 且单体 II<sub>c</sub> 中增加了 OH 基的吸收峰 3346cm<sup>-1</sup>(O—H 伸), 1061cm<sup>-1</sup>(C—O 伸), 1374cm<sup>-1</sup>(O—H 弯)。表 3 中列出了单体 II<sub>a-g</sub> 的质子化学位移数据, 表明七种单体 II<sub>a-g</sub> 都有相似的化学结构。紫外吸收光谱数据见表 3 和元素分析结果见表 1, 都进一步证实了单体 II<sub>a-g</sub> 的化学结构。

### 2. 聚合物的合成

聚合物的合成参照范昌烈等<sup>[5]</sup>合成含 5-氟尿嘧啶聚磷酸酯的方法, 并作了一些改进, 文献中制备聚磷酸酯的方法是在无碱存在时, 较高温度下, 二磷酸酯与双羟基化合物进行缩聚反应后, 再加入碳酸钾水溶液中和反应放出的氯化氢。而在合成含氮芥的聚磷酸酯时, 若缩聚反应完毕后, 再加碱的水溶液来中和氯化氢很难判断反应放出的氯化氢是否中和完毕, 因为氮芥基团在碱性介质中很不稳定, 易分解放出氯化氢。所以在合成含氮芥的

表 3 单体 II<sub>a-g</sub> 的核磁谱和紫外光谱数据

单 体	溶剂	<sup>1</sup> H-NMR*δ(ppm)					UV**
		C <sup>4</sup> H	C <sup>5</sup> H	NCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	C-CH <sub>2</sub> -C	CH <sub>3</sub>	λ <sub>max</sub> (nm)
II <sub>a</sub>	CD <sub>3</sub> CN	7.60(d, 1H)		3.20—4.10(m, 10H)			272
II <sub>b</sub>	CD <sub>3</sub> CN	7.60(d, 1H)		3.20—4.20(m, 10H)	1.40—2.15 (m, 4H)		272
II <sub>c</sub>	d-DMF	7.50(d, 1H)	5.55(d, 1H)	3.20—4.00(m, 10H)			267
II <sub>d</sub>	CD <sub>3</sub> CN	7.45(d, 1H)	5.50(d, 1H)	3.20—4.10(m, 10H)	1.40—2.16 (m, 4H)		267
II <sub>e</sub>	d-DMF	7.45(s, 1H)		3.20—4.10(m, 10H)		1.80(5, 3H)	270
II <sub>f</sub>	CF <sub>3</sub> COOH	7.45(s, 1H)		3.75—4.65(m, 10H)	1.90—2.40 (m, 4H)	2.00(5, 3H)	270
II <sub>g</sub>	CF <sub>3</sub> COOH	7.85(d, 1H)	5.75 (s, 2H, N <sup>3</sup> CH <sub>2</sub> O),	5.50 (s, 2H, N <sup>4</sup> CH <sub>2</sub> O),	5.15 (bs, 2H, OH)		268

\* <sup>1</sup>H-NMR 用 EM-360L 型仪器测定 (60MHz), TMS 作内标; \*\* UV 用 UV-240 型仪器测定, 水溶液 pH = 7.

聚磷酸酯(III)时,我们先在反应体系中加入与缩聚反应放出的氯化氢等摩尔量的碱,可以降低反应温度,在室温条件下反应仍能得到较高产率的聚磷酸酯,效果较好。

### 3. 聚合物的化学结构

以聚合物 III<sub>c</sub> 和单体 II<sub>c</sub> 为例,对比聚合物和单体的核磁图谱,可以看到,在聚合物 III<sub>c</sub> 的谱图中(见图 1b),单体 II<sub>c</sub> 环上的 6 位氢,5 位氮的化学位移不变,δ3—4 (m, 16H)

为聚合物结构中 与氯、氧、氮相连的次甲基的质子峰。另一方面,从它们的红外光谱图(见图 2)中可以看到,在聚合物的谱图中,出现了磷酸酯键的特征吸收峰(ν<sub>P=O</sub> 1233cm<sup>-1</sup> 强宽峰和 ν<sub>P-O-C</sub> 996—1064cm<sup>-1</sup> 强宽峰),说明在聚合物中形成了磷酸酯键,而单体中羰基峰及其它峰都存在。经核磁、红外光谱分析,表明聚合物 III<sub>a-g</sub> 具有预期的化学结构。

### 4. 聚合物的溶解性能

这类聚合物易溶于水、二甲基甲酰胺、苯甲醇、溶于乙醇、丙三醇、氯仿,不溶于乙

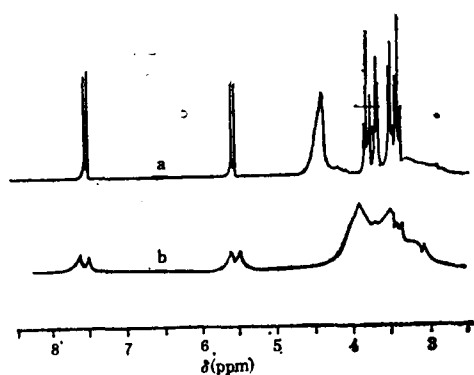


图 1 聚合物的核磁图谱

(a) 单体 II<sub>c</sub>(200MHz); (b) 聚合物 III<sub>c</sub>(60MHz)

酸乙酯、丙酮、乙醚。这类聚合物的良好水溶性对于药物在体内的生物转移过程 and 选择给药方式是很重要的。

### 5. 聚合物抗动物肿瘤试验

已进行了部分聚合物抗动物肿瘤活性试验, 对小鼠艾氏腹水癌抑制结果见表 4。

将聚合物 III<sub>a</sub>、III<sub>b</sub> 与前文<sup>[1]</sup>报道的含氮芥和 5-氟尿嘧啶的聚合物 V<sub>a</sub>、V<sub>b</sub> 对比可以看出, 虽然这四种聚合物都是既含氮芥又含 5-氟尿嘧啶的聚磷酸酯, 由于主链化学结构不同, 聚合物 III<sub>a</sub>、III<sub>b</sub> 对小鼠艾氏腹水癌的抑制作用比聚合物 V<sub>a</sub>、V<sub>b</sub> 大。这可能是由于单体 1, 3-二羟烷基-5-氟尿嘧啶的抗肿瘤活性比 N, N'-二(羟烷基)-5-氟尿嘧啶-1, 3-双乙酰胺的抗肿瘤活性高而引起的。将含 5-氟尿嘧啶和氮芥的聚合物与 5-氟尿嘧啶, 氮芥盐酸盐同时进行抗动物肿瘤的对比试验, 结果表明: 聚合物 III<sub>a</sub>、III<sub>b</sub> 对小鼠艾氏腹水癌的抑制作用与单用 5-氟尿嘧啶或氮芥盐酸盐的抑制作用相当, 抗肿瘤活性最高的是聚合物 III<sub>a</sub>, 其抑制率达 66%。而聚合物的毒性远远小于 5-氟尿嘧啶和氮芥盐酸盐。在注射聚合物药物的治疗组中小鼠全部生存, 而在注射 5-氟尿嘧啶或氮芥盐酸盐的治疗组中小鼠大量死亡, 死亡率分别达 58% 和 33%。表明将两种小分子抗癌药 5-氟尿嘧啶和

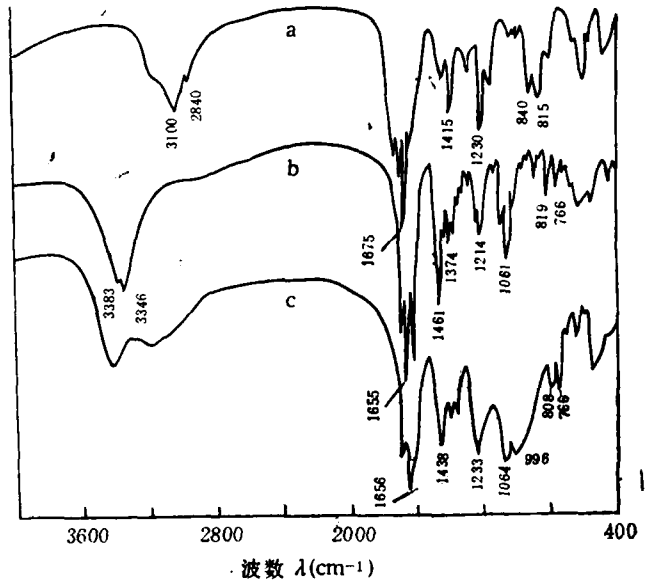


图 2 尿嘧啶、单体 II<sub>c</sub> 和聚合物 III<sub>c</sub> 的红外光谱图  
(a) 尿嘧啶; (b) 单体 II<sub>c</sub>; (c) 聚合物 III<sub>c</sub>。

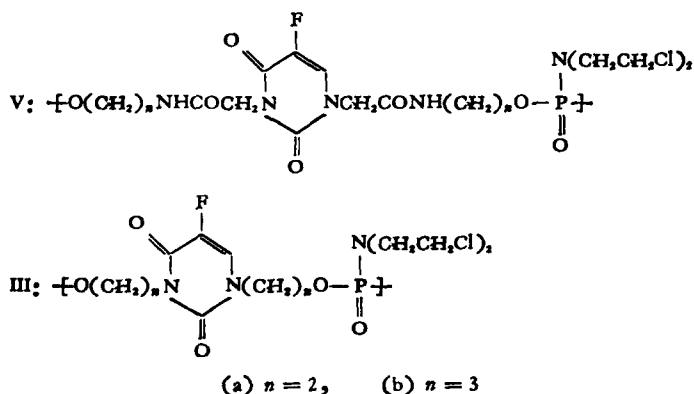
进行抗动物肿瘤的对比试验, 结果表明: 聚合物 III<sub>a</sub>、III<sub>b</sub> 对小鼠艾氏腹水癌的抑制作用与单用 5-氟尿嘧啶或氮芥盐酸盐的抑制作用相当, 抗肿瘤活性最高的是聚合物 III<sub>a</sub>, 其抑制率达 66%。而聚合物的毒性远远小于 5-氟尿嘧啶和氮芥盐酸盐。在注射聚合物药物的治疗组中小鼠全部生存, 而在注射 5-氟尿嘧啶或氮芥盐酸盐的治疗组中小鼠大量死亡, 死亡率分别达 58% 和 33%。表明将两种小分子抗癌药 5-氟尿嘧啶和

表 4 含 5-氟尿嘧啶和氮芥的聚合物与 5-氟尿嘧啶 (5-Fu)、氮芥盐酸盐 (M·HCl) 抗小鼠艾氏腹水癌试验数据比较

样品***	剂量 (mg/kg)	给药途径* ×次数	治疗组鼠数		体重变化率(%)	平均瘤重 (g)		抑制率 (%)	P 值
			始	末		对照组	治疗组		
V <sub>a</sub>	180	i.p.×6	9	9	-3.3	1.16	0.68	41.3	<0.001
V <sub>b</sub>	180	i.p.×6	11	11	-7.6	1.16	0.63	45.7	<0.001
III <sub>a</sub>	180	i.p.×6	9	9	-11	1.16	0.39	66.0	<0.001
III <sub>b</sub>	130	i.p.×6	9	9	-17	1.16	0.48	58.6	<0.001
5-Fu**	30	i.p.×4	12	5				58.9	<0.001
M·HCl	120	i.p.×1	9	6	-22	1.16	0.45	61.2	<0.001

\* i.p.-腹腔注射; \*\* 毒性太大, 动物死亡率达 58%, 只能作参考; \*\*\* 聚合物结构。

氮芥引入同一聚合物中, 可以降低药物的毒性, 并且保持较高的抗肿瘤活性, 而一般将 5-氟尿嘧啶或氮芥引入合成的聚合物中, 会降低药物的毒性, 同时抗肿瘤活性也有所



降低,说明将两种不同作用机理的抗癌活性基团引入同一聚合物中可以提高药物的抗肿瘤活性,降低其毒性。

致谢 本文抗动物肿瘤试验由武汉医学院药理学系曾凡波等同志协助进行,谨此致谢。

### 参 考 文 献

- [1] 陈衡生、周念恩、卓仁禧,“特殊性能高分子学术论文报告会预印集”,中国桂林,1984, p. 73.
- [2] 范昌烈、麦才淦、余 惠、向家宁、丁齐柱、卓仁禧,武汉大学学报,1984,(2),115.
- [3] 任云峰,药学报,1962,(1),7.
- [4] Reznik, V. S. and Pashkurov, N.G., *Izv. Akad. Nauk. SSSR, Ser. Khim.*, 1968,(6),1327; *Chem. Abstr.* 69, 106651.
- [5] 范昌烈、麦才淦、徐建军、卓仁禧,高分子通讯,1985,(1),77.

## CHEMOTHERAPEUTIC POLYMER

### XVII THE SYNTHESIS AND ANTITUMOR ACTIVITY OF POLYPHOSPHATES CONTAINING BOTH NUCLEIC ACID BASE AND NITROGEN MUSTARD

ZHOU Nianen, CHEN Qusheng and ZHUO Renxi

(Department of Chemistry, Wuhan University, Wuhan)

#### ABSTRACT

Seven new polyphosphates containing both nucleic acid base and nitrogen mustard were prepared by reacting the monomers, i.e. 1,3-dihydroxyalkyl-5-fluorouracil (II<sub>a,b,g</sub>), 1,3-dihydroxyalkyluracil (II<sub>a,d</sub>) and 1,3-dihydroxyalkylthymine (II<sub>a,t</sub>) with N,N-bis(2-chloroethyl) phosphoramidic dichlorid (I). The monomers and polymers were structurally characterized by <sup>1</sup>H-NMR, IR spectra and elemental analysis. All of the polymers obtained are soluble in water. The antitumor activity of some of these polymers were tested against Ehrlich ascites in mice. The results showed that the polyphosphates containing both 5-fluorouracil and nitrogen mustard exhibit the lower toxicity and higher antitumor activity. The inhibition ratio of the polymer (III<sub>a</sub>) is 66%.

**Key words** Polymeric Drug, Polyphosphates, Antitumor, 5-Fluorouracil, Nitrogen Mustard