

直接缩合法合成 5'-(5-碘吲哚酚-[3])胸腺嘧啶核苷酸

潘淦兴 丁昌荣

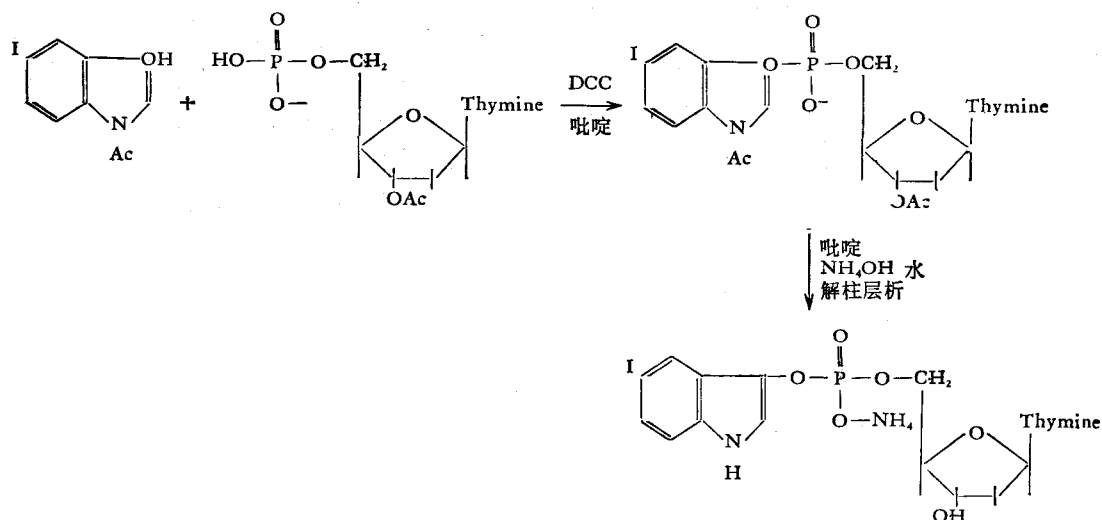
关启星

(中国科学院上海生物化学研究所)

(上海淮海制药厂)

5'-(5-碘吲哚酚-[3]) 胸腺嘧啶核苷酸及其类似物曾用于肿瘤的化疗。它在体内可被 5'-核苷酸磷酸二酯酶水解。以它作为底物在聚丙烯酰胺电泳上检测人血清中 5'-核苷酸磷酸二酯酶同工酶-V, 是诊断人类原发与继发肝癌的一个有效的血清学方法^[1-4]。Tsou 等在合成这类生色底物时采用氧氯化磷的路线, 即先使吲哚酚磷酸氯化, 然后与核苷缩合的方法合成。胸

腺嘧啶核苷酸上的磷酸根在脱水剂参与下可以酯化和酰胺化^[5,6], 提示它有可能与吲哚酚的羟基直接起反应。为此我们尝试在二环己基碳二亚胺 (DCC) 存在的条件下, 使 5-碘-N-乙酰吲哚酚-[3] (5-I-NAc-Inol) 与 3'-O-乙酰基胸腺嘧啶核苷酸 (3'-OAc-pT) 直接缩合, 经水解而制备 5'-(5-碘吲哚酚-[3]) 胸腺嘧啶核苷酸 (5'-(5-I-Inol)-pT)。



结果与讨论

5-I-NAc-Inol 基本按 Robiger^[7,8] 的方法合成。

3'-OAc-pT 的合成: 称取 650 毫克 (1.92 m mole) 胸腺嘧啶核苷 5'-磷酸 (TMP), 参照 Ohtsuka^[9] 的方法制得 3'-OAc-pT 糖浆, 经乙醇/1M 醋酸铵 (7:3) 层析系统检测 TMP 已全部转化为 3'-OAc-pT。

5-I-NAc-Inol 与 3'-OAc-pT 的缩合反应: 上述 3'-OAc-pT 糖浆溶于 100 毫升 20%

吡啶水溶液, 通过 Zerolit 225 吡啶型层析柱, 然后用 150 毫升 20% 吡啶洗脱, 合并流出液和洗脱液, 减压浓缩成糖浆, 置真空干燥器过夜, 加 20 毫升无水吡啶溶解得 3'-OAc-pT 溶液。另称取 20.6 克 (100 m mole) DCC 并溶于 5 毫升无水吡啶, 然后加入上述 3'-OAc-pT 溶液中, 混合液在 25°C 预激活 10 分钟, 充氮后加入 5-I-NAc-Inol 溶液 (560 毫克, 1.9 m mole, 溶于 13 毫升吡啶), 反应混合物减压浓缩至约 10 毫升, 再次充氮后在 25°C 振荡反应 6 天, 完成缩合反应。

5'-(5-I-Inol)-pT · NH₄ 的分离: 上述缩合反应的混合物加 7M NH₄OH 76 毫升水解 3 小时, 脱去乙酰基; 过滤, 滤液用乙醚萃取三次; 收集水层并减压浓缩至干, 干燥物溶于 40 毫升水; 在 DEAE-Sephadex A-25 柱 (HCO₃⁻型) 上进行分离。上柱后分别用 0.12M、0.2 M 和 0.25 M NH₄HCO₃ 溶液分级洗脱, 收集 0.25 M 洗脱液中最大紫外吸收 (268 毫微米) 和最小吸收 (250 毫微米) 的分部, 浓缩至干, 并反复用甲醇溶解, 抽干, 除尽 NH₄HCO₃, 得浅黄色 5'-(5-I-Inol)-pT · NH₄ 97 毫克, 产率一般在 6—9%。

经 5'-蛇毒磷酸二酯酶酶解和紫外吸收光谱的鉴定证明所合成的产物是 5'-(5-碘吡啶酚-[3])胸腺嘧啶核苷酸 5'-(5-I-Inol)-pT。吸收光谱如图 1 所示, 吸收高峰在 268 毫微米, 低

峰在 250 毫微米, 高低峰光密度之比值为 1.26, 与文献值相符。产物经高压电泳分析 (0.05M, pH 7.5 磷酸缓冲液, 4000 伏/45 毫安, 45 分钟), 纯度为 94%。

我们采用直接缩合的方法, 和氧氯化磷的方法相比, 省略了吡啶酚的磷酸氯化, 核苷的三苯甲基化和去三苯甲基等反应, 因而步骤较少, 反应的无水条件要求也较低, 反应中无可干扰磷酸二酯酶测定的磷酸单酯酶底物 (5-碘吡啶酚磷酸单酯) 的生成。但本方法可能生成焦磷酸、靛蓝等副产物。这是有待改进的。此外, 我们还曾观察到乙酰化产物的水解时间缩短为 40 分钟时产量高一倍。

参 考 文 献

- [1] Tsou, K. C. et al.: *Cancer Res.*, **33**, 2215, 1973.
- [2] 中国科学院上海生物化学研究所肿瘤组等: 《生物化学与生物物理学报》, 1975 年, 7 期, 157 页。
- [3] Lu, H. M. et al.: *Int. J. Cancer*, **26**, 31, 1980.
- [4] 史博之等, 中华医学检验杂志 **3**, 75, 1980.
- [5] Tajima, K. et al.: *Bull. Chem. Soc. Jap.*, **45**, 2608, 1972.
- [6] Agarwal, K. L. et al.: *J. Amer. Chem. Soc.*, **93**, 2754, 1971.
- [7] Robiger, D. J. et al.: *J. Heterocyclic Chem.*, **7**, 307, 1970.
- [8] Su, H. C. F. et al.: *J. Amer. Chem. Soc.*, **82**, 1187, 1960.
- [9] Ohtsuka, E. et al.: *J. Amer. Chem. Soc.*, **89**, 2195, 1967.

[本文于 1981 年 1 月 25 日收到]

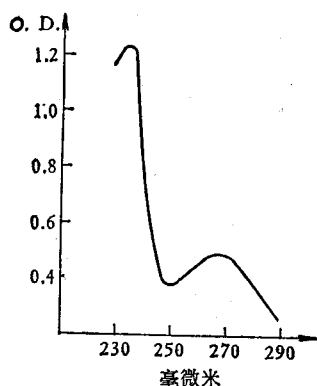


图 1 5'-(5-I-Inol)-pT 溶液 (0.023 毫克/毫升) 的紫外吸收光谱

小角激光光散射法(SALS)及其在生物学中的一些应用

胡世如 徐 懋

(中国科学院化学研究所)

纪极英 辛淑敏

(中国科学院生物物理研究所)

小角光散射法 (SALS) 于本世纪六十年代初, 首先由美国物理化学家 R. S. Stein 提出^[1], 随后在合成高分子材料的结构研究中得到了广

泛的应用^[2]。此法给出的结构信息在 1,000—100,000 Å 之间, 可与 X 光散射、光学显微镜和电镜等技术相互补充。通过 SALS 方法的观察,