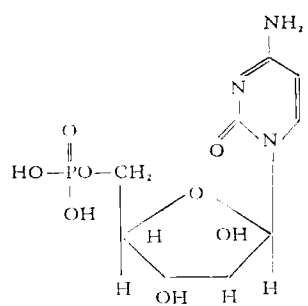


## 5'-胞嘧啶阿拉伯糖苷-磷酸的制备及其临床应用

顾 复 昌\*

(上海味精厂)

5'-胞嘧啶阿拉伯糖苷-磷酸 (1- $\beta$ -D-Ara-binofuranosylcytidine-5'-monophosphate, Ara-CMP (以下简称阿胞酸)。其糖的组成为阿拉伯糖, 化学结构式为

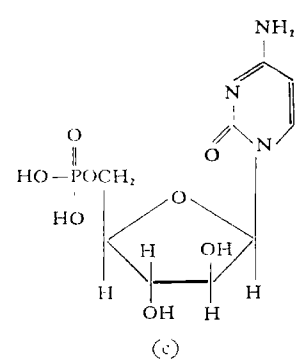
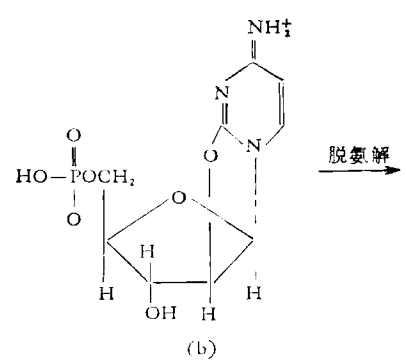
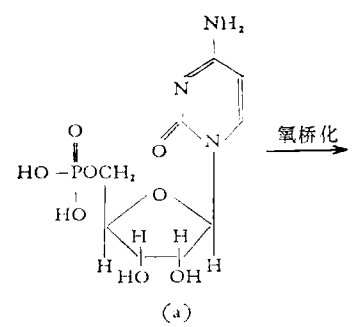


胞嘧啶阿拉伯糖苷 (Ara-c) 作为抗代谢剂, 早就广泛用于治疗儿童急性白血病<sup>[1]</sup>。为了克服 Ara-c 的某些缺点, 延长药物作用时间, 近年来又研制成 Ara-c 羧酸酯<sup>[2]</sup>, 棕榈酰化合物<sup>[3]</sup>, 2, 2'-环化胞嘧啶阿拉伯糖苷以及 Ara CMP<sup>[4]</sup> 等。据文献报道, Ara CMP 是较好的核苷酸类抗肿瘤、抗病毒药物<sup>[5, 6]</sup>。

Ara CMP 的生产, 可采用化学全合成及半合成<sup>[7, 8]</sup>。本工作采用半合成法: 以 5'-CMP 为原料, 在部分水解的氯磷酸及乙酸乙酯催化下, 形成 2, 2'-环化 CMP, 再通过氨解开环即成。收率一般在 50% 左右, 其化学反应式如右。

### 一、材料与方法

**1. 5'-CMP** 上海味精厂出品, 使用前经离子交换柱层析提纯, 含量在 95% 以上; 电泳、纸层均为一点。



**2. Ara CMP 定量法** 取样品 10 微升, 经纸层析后, 在紫外灯下分别划出紫外吸收斑点, 剪下后用 0.01N HCl 浸泡, 再取此溶液测定光

\* 现在工作单位: 上海食品工业研究所。

密度,按下式计算含量:

$$\text{Ara-CMP \%} = \frac{O.D._{260} \times \text{稀释倍数}}{\epsilon_{260}(13.8) \times \text{样品重量} \times \text{分子量} \times 100}$$

4. 纸电泳 A 硼酸缓冲液 0.05M, pH9.2, 电压 20—25 伏/厘米, 电泳 1 小时。B 0.05M 磷酸缓冲液, pH7.5, 电压 600 伏, 电流 50 毫安, 电泳 4 小时。

## 二、制备方法

1. 氧桥化反应 将  $\text{Pocl}_3$  500 毫升放入 5 立升的圆底磨口三颈瓶中, 开动搅拌器, 置于干冰浴中冷却 10—20 分钟; 然后滴加 90 毫升蒸馏水, 水加完后继续在冰浴中保持半小时左右; 倒入 550 毫升乙酸乙酯, 同时加入 5'-CMP(a) 100 克; 60°C 回流 60 分钟左右。反应结束后, 立即将反应液倒入约 8 立升的冰水中, 取样测定氧桥化反应的情况。光谱吸收高峰应由 230 毫微米 (pH2.0) 移至 265 毫微米 (pH2.0) 处, 其紫外光吸收曲线如图 1。在不断搅拌下, 用浓的 NaOH 调节 pH 至中性, 即得到中间产物 2, 2'-0-CMP(b)。

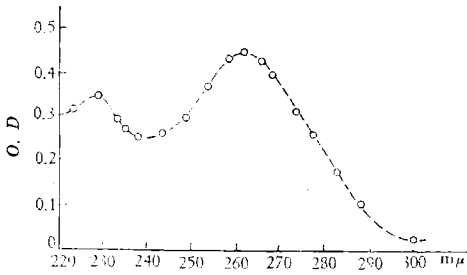


图 1 pH2.0 时 2, 2'-O-CMP 的紫外吸收曲线

2. 氨解反应 将上述反应中和液减压浓缩至 3 升左右, 加入浓氨水, 使溶液最终浓度为 1 克分子的  $\text{NH}_4\text{OH}$ ; 升温至 80°C, 保温 5—10 分钟, 使 2, 2'-O-CMP 断裂, 转化为 Ara-CMP(c)。光谱复由 265 毫微米 (pH2.0) 移至 280 毫微米 (pH2.0), 光谱比值:  $\frac{O.D._{280}}{O.D._{260}} \approx 2.0$ 。其紫外光吸收曲线如图 2。

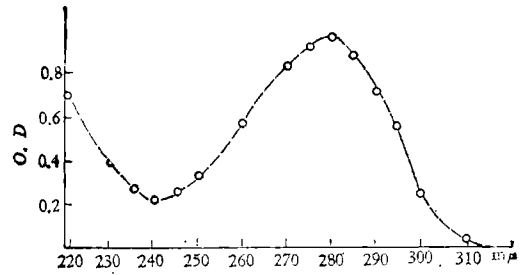


图 2 pH2.0 时 5'-Ara-CMP 的紫外吸收曲线

3. 分离与结晶 将上述反应液调至 pH2.0 左右, 上 769# 活性炭柱脱盐 (炭柱装炭约 3 立升), 用自来水反复冲洗, 再用 20 立升的蒸馏水洗至无  $\text{Cl}^-$ ; 然后用酒精氨水 (95% 酒精: 氨水: 水 = 50:5:45, V/V), 于 60°C 左右洗脱; 洗脱液减压浓缩至原体积一半以下; 用盐酸调至 pH4.8, 通过 717[ $\text{Cl}^-$ ] 型树脂柱, 使反应液中非胞嘧啶类核苷酸留在柱上, 而 5'-CMP 及 Ara-CMP 则流出; 再用少量 pH4.8 水洗柱中残留的 Ara-CMP; 流出液继续减压浓缩至 40 毫升左右; 加 300 毫升 95% 乙醇 (pH3.5), 放冰箱结晶, 过滤得粗产品, 含量约为 80—85% 的 Ara-CMP80 克左右。再溶于 0.05M 硼酸溶液中, pH8.0 以上, 上 717 [硼酸型] 树脂柱, 以 1—2 倍柱体积的蒸馏水洗柱, pH4.8 的水流洗。分离图谱如图 3:

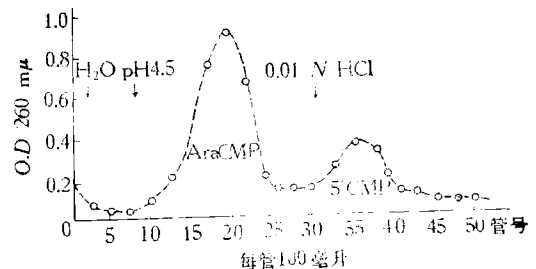


图 3 3'-Ara-CMP 洗脱图

将 Ara-CMP 收集液调 pH2.0, 再通过第二根 769# 活性炭柱, 并用酒精氨水洗脱, 减压浓缩至原体积的 1/3 左右; 用 HCl 调 pH3.5; 炭粉少许脱色, 再继续减压浓缩至 50 毫升左右; 加 300 毫升 95% 乙醇, 便有产品析出; 放置冰箱结晶, 过滤得产品, 并用 95% 乙醇洗涤, 所得白

色粉末状易吸潮产品，置  $R_2O_3$  减压干燥保藏。

三、产品鉴定

本品主要用下述的化学和物理方法进行分析，证明确实为阿胞酸。

1. 本品在 0.01N HCl 中进行紫外光吸收扫描，测得最高光吸收值的波长为 280—282 毫微米处，最低光吸收值波长为 240 毫微米处，光密度比值： $\frac{O.D._{240}}{O.D._{260}} = 2.0$ ， $\frac{O.D._{240}}{O.D._{260}} = 0.43$ ， $\frac{O.D._{280}}{O.D._{260}} = 1.63$  与 5'-CMP 具有相似的光谱特征(图 4)：

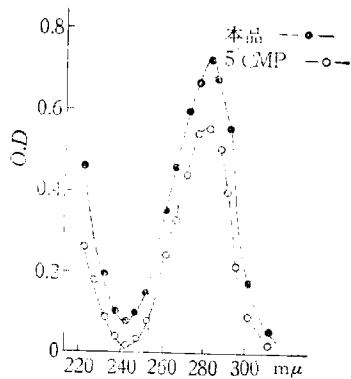


图 4 pH2.0 时本品及 5'-CMP 的紫外吸收曲线

2. 本品每一微克分子应含 1 微克原子磷(即 340 微克中含 30.5 微克的水解磷)，用过碘酸氧化二顺邻位羟基的方法<sup>[9]</sup>得负结果；磷酸戊酯的糖也不与半胱氨酸硫酸显色，从而证明不是核糖及脱氧核糖，只能是阿拉伯糖。

3. 本品经前述方法进行电泳和层析，(图 5(b)，图 6(a)) 结果与文献值相同，详见表 1：

表 1 纸电泳与层析数据

| 化合物名称      | 纸层析(RF) |                    | 纸电泳(厘米) |                    |
|------------|---------|--------------------|---------|--------------------|
|            | 实验值     | 文献值 <sup>[6]</sup> | 实验值*    | 文献值 <sup>[6]</sup> |
| 5'-CMP     | 0.46    | 0.47               | 10.5    | 10.5               |
| 2,2'-O-CMP | 0.48    | 0.49               | 4.5     | 4.41               |
| 5'-Ara CMP | 0.56    | 0.58               | 10.2    | 10.5               |

\* 以 5'-CMP 电泳换算成 10.5 厘米计

在硼酸缓冲液中，本品泳动速度小于 5'-

CMP(图 5(a))，是由于产品的戊糖部分没有二顺邻位羟基与硼络合成更强的净负电荷之故。纸层析在 B 溶剂中，其  $R_f$  小于 5'-CMP(图 6(b))，从而证明本品为阿胞酸。

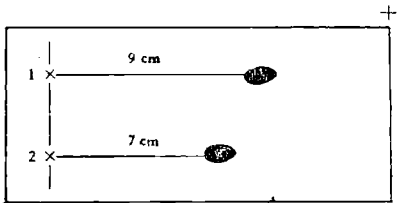


图 5-a 硼酸缓冲液中 Ara CMP 的纸电泳图谱  
电泳条件见“材料和方法” 1.5'-CMP, 2.Ara-CMP

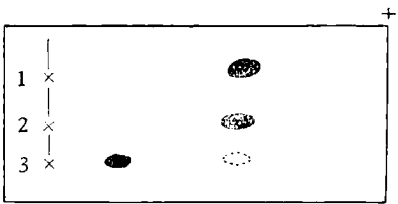


图 5-b 硼酸缓冲液中 Ara CMP 的纸电泳图谱  
电泳条件见“材料和方法”；1.5'-CMP, 2.Ara-CMP, 3.2,2'-O-CMP

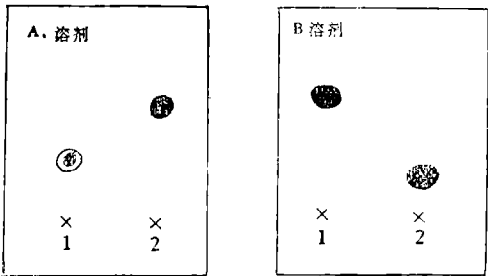


图 6 纸层析图谱

条件见“材料和方法”  
溶剂 A. 异丙醇:浓盐酸:水=34:8.2:7.8 (体积/体积)  
溶剂 B. 正丁醇:冰醋酸:水=5:2:3 (体积/体积)  
上行、室温中展层。

四、药理及临床

1. 中毒量测定 检品经体重为 18—20 克健康小白鼠腹腔及尾静脉注射，测得半致死量分别为 1875 毫克/公斤及 1700 毫克/公斤。

检品经体重为 18—20 克健康小白鼠腹腔注射 50 毫克/公斤/日，连续注射七天后白血球及血小板减少。停药二周后，80% 的小白鼠能

恢复至用药前的白血球及血小板总数。解剖未见肾、肝肿大及出血斑点。

**2. 过敏试验** (i) 每只豚鼠皮下注射粗制品 1 毫升,隔日一次,共三次,二周后每只豚鼠静脉注射纯品 25 毫克/毫升。

(ii) 一次注射纯品 25 毫克/毫升方法同(i)。

上述结果均为阴性,动物未见明显的不良反应。

**3. 热源及无菌检查** 按药典常规方法进行,结果合格。

**4. 临床疗效** 从 72 年 5 月起至 73 年秋,临床使用结果证明,阿胞酸治疗急性白血病具有一定的疗效。详见表 2、表 3。

表 2 阿胞酸应用于急性白血病的疗效

|           | 病例数 | 完全缓解 |    | 部分缓解 |    | 无效 |    |
|-----------|-----|------|----|------|----|----|----|
|           |     | 例数   | %  | 例数   | %  | 例数 | %  |
| 急性粒细胞性白血病 | 25  | 5    | 20 | 15   | 60 | 5  | 20 |
| 急性淋巴性白血病  | 15  | 5    | 33 | 7    | 47 | 3  | 20 |
| 其它急性白血病   | 12  | 4    | 33 | 7    | 58 | 1  | 9  |
| 总 计       | 52  | 14   | 27 | 29   | 55 | 9  | 18 |

表 1, 表为上海市纺织第一医院内科, 上海第一医学院华山医院血液病房, 上海第二医学院附属新华医院儿科、上海市第一人民医院及普陀区中心医院等单位临床病例汇总结果。

完全缓解系指骨髓象改善, 部分缓解指周围血象改善; 无效指用药后均不见好转。

**5. 临床体会** (i) 静脉单次剂量达 20 毫克/公斤无严重毒性表现。连续滴注 8 毫克/公斤/日 × 3.5 天或 4 毫克/公斤/日 × 7 天, 均表现骨髓被抑制。周围血象血球下降; 停药后 5—7 天达最低值。

(ii) 临床开始剂量一般控制在每天 2 毫克/公斤, 5—8 天为一疗程, 如无抗白血病作

表 3 毒性副反应及异常表现 (30 例)

| 反应项目 | 例次 | 百分率% | 反应项目    | 例次 | 百分率% |
|------|----|------|---------|----|------|
| 恶 心  | 22 | 73.3 | 心 悸     | 2  | 6.7  |
| 呕 吐  | 22 | 73.3 | 静 脉 炎   | 4  | 13.3 |
| 食欲减退 | 19 | 63.3 | 眼球结膜充血  | 2  | 6.7  |
| 口腔溃疡 | 5  | 16.7 | 低血钾症    | 1  | 3.3  |
| 头 昏  | 12 | 40.0 | 碱性磷酸酶升高 | 4  | 13.2 |
| 发 热  | 6  | 20   |         |    |      |

用,亦无毒性反应,可增加至每天 4 毫克/公斤,直至毒性或疗效出现。当病情缓解后,可进行周期性维持疗法。每隔半周皮下注射 1 毫克/公斤。

本工作得到上海生化所王德生老师指导。临床部分承上海纺织第一医院王豫廉、华山医院丁钺、新华医院谢竟雄、上海市第一人民医院陈秀春等医师协助。本厂郇云临、王雨强同志参加部分工作。在此一并致谢。

参 考 文 献

[1] The Upjohn Company; *Clin. Pharmacol. and Therap.*, **11** (1), 155—160, 1970.  
 [2] Gish, D. T. et al.; *J. Med. Chem.*, **14**, 1159, 1971.  
 [3] 北京大学制药厂:《抗白血病药物的研究——阿糖胞苷衍生物的合成 (1)》, 1973.  
 [4] 孙玉昆:《生物化学与生物物理进展》, 1977 年, 3 期, 27—37 页。  
 [5] Renis, H. E. et al.; *J. Med. Chem.*, **10**, 77, 1967.  
 [6] Hoschi, A. et al.; *Chem. Pharm. Bull.*, **21**, 9—13, 1973.  
 [7] 湖南医药工业研究所:《医药工业》, 1972 年, 7 期, 12—16 页。

[本文于 1979 年 7 月 27 日收到]

《环境科学学报》明年创刊

为促进国内外环境科学学术交流,中国科学院环境科学委员会主办的《环境科学学报》(季刊)将于 1981 年 3 月创刊。

《环境科学学报》为综合性学术刊物,主要刊登环境科学方面具有创造性和我国特色的基础理论和带基

础性研究的学术论文;新技术、新方法及综合性的重大研究成果。

该刊由科学出版社出版。国内读者可向各地邮局订阅,国外读者可向国际书店订阅。