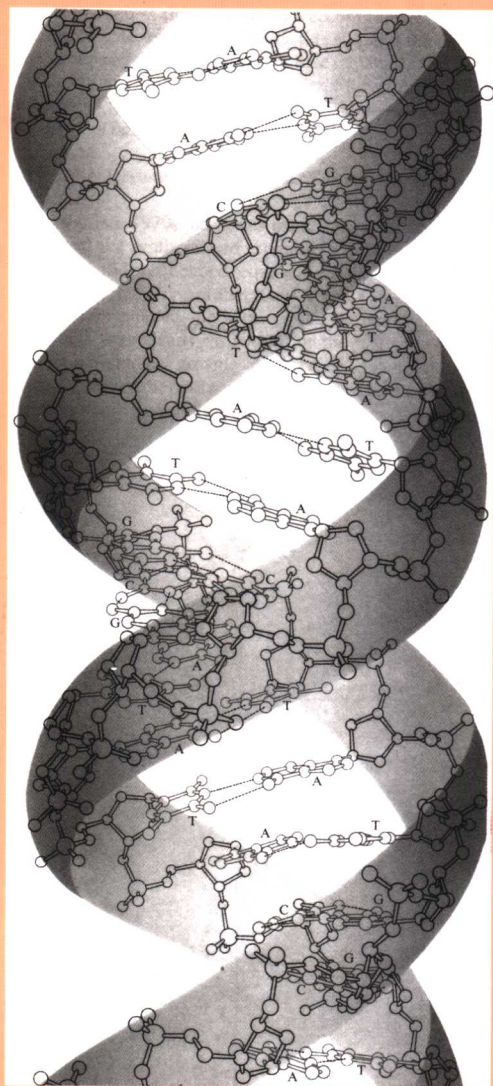




姚其正 编著

核苷化学合成



化学工业出版社

核苷化学合成

姚其正 编著



化学工业出版社

· 北京 ·

(京)新登字 039 号

图书在版编目(CIP)数据

核苷化学合成/姚其正编著. —北京:化学工业出版社,
2005.4
ISBN 7-5025-6943-X

I. 核… II. 姚… III. 核苷-化学合成 IV. TQ28

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 031135 号

核苷化学合成

姚其正 编著

责任编辑:王秀鸾

责任校对:王素芹

封面设计:胡艳玮

*

化学工业出版社出版发行

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

发行电话:(010)64982530

[http:// www. cip. com. cn](http://www.cip.com.cn)

*

新华书店北京发行所经销

北京永鑫印刷有限责任公司印刷

三河市东柳装订厂装订

开本 787mm×1092mm 1/16 印张 22¼ 字数 554 千字

2005 年 6 月第 1 版 2005 年 6 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-6943-X

定 价: 48.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者,本社发行部负责退换

前 言

核苷的化学合成始于 20 世纪初, 化学家对这类化合物合成策略、合成方法、原理等的研究一直没有停止过, 所形成的核酸化学这一学科为 DNA 双螺旋体的发现、分子生物学、分子遗传学、生物医学、药学、基因工程等学科与技术的发展以及对人类基因组计划的完成做出了不可磨灭的贡献。人们对核苷作用与应用重要性的认识在 20 世纪末与 21 世纪初得到充分地提高, 这无不得益于以下重要事实。

20 世纪 80 年代初, 人类发现艾滋病和艾滋病毒后, 首先利用具有抗逆转录酶作用的双脱氧核苷 AZT (3'-叠氮胸苷), 有效地抑制了艾滋病病毒 HIV 的复制, 大大提高了人们抗击艾滋病的信心, 使人们对核苷的作用有了全新的认识, 随后在全球化学界、药学界掀起了研制各种类型核苷的热潮, 这种热潮至今仍在延续。核苷类药物的应用范围及核苷化合物的结构类型得到空前的扩展, 核苷合成的方法与手段得到跨越式的发展, 核苷及其衍生物已成为人们征服病菌、病毒、癌症等的重要手段。

21 世纪初, 随着人类基因组计划的完成, 各种功能基因的发现和从基因水平上寻找疾病产生原因, 大大促进和提高了人们应用核苷与核苷酸的水平, 随之而来的基因芯片、DNA 计算机和 DNA/RNA 纳米组装体等新概念、新名词、新思想的出现, 展现了核苷与核苷酸极其美好的应用前景, 体现了人类服从和学习自然界生物规律的决心, 使核苷和核苷酸这些遗传密码的基质成为体外的功能材料, 将发挥无法估量的作用。因此, 人们对核苷和核苷类化合物需求不断增加, 例如, 随着艾滋病流行的加快, AZT 的普遍应用, 其制备的原料胸苷的需求量呈持续上升的势态, 我国出口胸苷的量从 1997 年的几吨, 到 2003 年底的出口量近 60t。现在, 我国已成为重要的多种核苷和核苷酸出口国。

核苷的来源除可从天然产物中提取或用微生物法与酶法制备外, 化学合成是极其重要的手段, 它具有多方面的优势, 如可以大规模地进行工业化生产, 产量高; 生产周期短, 生产效率高; 合成的原料来源广泛; 可合成单一核苷和各种修饰性核苷及其衍生物, 满足各方面的应用要求。一个世纪以来, 在核苷化学合成方面形成和积淀了极其丰富的知识, 并仍在不断地发展, 应该掌握它, 运用它, 为合成各类核苷服务。国内现有的有机化学方面的教材和参考书仅简单地介绍了关于核苷的一些普通概念, 而系统详细地介绍核苷化学合成方面的书籍尚无。在国外, 虽有不少这方面的著作, 但大多数是某些方面的专论汇编。显然, 编写一部适于国内应用的核苷化学合成专著是必要的。为此, 作者从 1992 年去德留学, 从师于曾任多届国际核酸化学委员会主席的 Wolfgang Pfleiderer 教授, 收集了有关核苷化学合成领域的文献资料 5000 多份, 并根据在 Pfleiderer 教授研究组中学习工作 5 年的实践体会与经验, 为尝试系统深入介绍核苷化学方面的知识而编写出本书, 希望能为我国广泛开展核苷化合物的合成研究和大规模生产, 成为一个生产核苷大国贡献微薄之力。

作者希望本书既能成为一本教材, 又可作为多方面专业读者的参考书, 故在编写中注意在介绍大量合成事例同时, 进行反应原理与规律的讨论与归纳; 在介绍某方面研究历史、现状时, 也注意展望今后研究趋势; 在重点介绍某一类化合物合成时, 也概述相关类似物的研究进展, 并提供相关的参考文献, 供有兴趣者参阅。本书另一特点是提供了 500 多个反应图

式和相应的分析、近 20 个表格、200 个相关缩略语与符号，大量的新试剂、新方法和实用的核苷与核苷酸合成中所需的各类保护基，以及丰富翔实的资料文献。

全书在内容安排上努力向科学性、先进性、系统性和条理性靠拢，形成一部具有特色且较完整的核苷化学合成论著。

在编著过程中，得到导师 Pfleiderer 教授的支持与帮助，在他近年多次来华讲学期间，对本书的编写大纲多次提出了修改意见，并向作者赠寄多本有关书籍、资料和他的系列论文，作者在此表示最诚挚的感谢！中国药科大学华维一教授对本书给予大力支持，抽空审阅了部分章节；我的家人给予了多方面的帮助与激励；本实验室全体人员热情关心，博士研究生唐锋、王朝晖，硕士张志祥、吕刚、石静波、冯明声、姜力勋、郭平和硕士研究生徐颂、刘子宁、时毅、邓艳君、李小亮、李晶晶、孟庆义承担了全部文字录入与反应图式的绘制、校对等工作，在此一并向他们表示衷心的感谢！

作者教学科研工作繁重，又限于知识水平，独力编写本书深感艰巨，因而，自动笔以来，日以继夜，不敢松懈，以望勤能补拙，减少不足。然而，心有余而力不足，书中的缺陷难以免除，恳望读者和专家指正赐教 (Email: qz_yao@yahoo.com.cn)，作者不胜感谢！

姚其正

2005 年 1 月于南京

内 容 提 要

本书是一部有特色的完整的核苷化学合成专著，全书共六章。第一章核苷与核苷酸化学结构及其多方面的应用。第二章核苷与核苷酸化学合成的重要意义。第三章重点介绍嘧啶和嘌呤类等核苷碱基的合成方法、原理，同时简介了已用于核苷合成的其他多种类型碱基。第四章在叙述核苷糖基结构变化和其在生物医药中作用与效应之间的关系，系统地介绍了各类糖基的化学合成和化学修饰，其中包括方法、原理、反应条件的影响和相关新试剂等。第五章核苷的化学合成，介绍了建立 C—N 和 C—C 核苷键的多种经典方法和新方法以及这些方法的机理、影响因素的讨论，阐述了核苷合成中的立体化学等问题。第六章核苷的多种化学反应，着重叙述这些反应引起的核苷中糖基的转移、碱基的修饰与变化、糖基的修饰与变化，由此，形成一种新的核苷合成方法，并且讨论了这些核苷结构变化与其生物效应之间的关系。书末附有相关缩略语与符号表。

本书提供了 500 多个反应图式和相应的分析与讨论以及丰富的资料文献，基础理论、实际应用和最新研究进展，并具有专业基础课教材和科研人员参考书的特点。本书可供有机化学、生物化学、药学、医学、食品科学、精细化工等专业高年级本科生、研究生、教师和相关专业科研人员学习参考。

目 录

第一章 核苷的化学结构和应用	1
第一节 核苷的化学结构	1
一、核酸化学的历史	1
二、核酸化学结构	3
第二节 核苷的作用与用途	18
一、核苷和核苷酸的合成与遗传密码	18
二、核苷在其他方面的主要应用	20
参考文献	32
第二章 核苷化学合成的重要性	33
第一节 提取天然核苷所面临的问题	33
第二节 核苷化学合成的优势和任务	34
一、核苷化学合成的优势	34
二、化学合成核苷类化合物的任务	35
参考文献	35
第三章 核苷碱基的化学合成	36
第一节 修饰核苷	36
一、简单修饰型核苷	36
二、中度修饰型核苷	36
三、高度修饰型核苷	41
第二节 嘧啶类化合物的化学合成	41
一、化学合成方法	41
二、嘧啶的主要化学反应（性质）	47
三、5-氟尿嘧啶的合成	50
第三节 嘌呤类化合物的化学合成	52
一、化学合成方法	52
二、嘌呤的主要化学反应	59
第四节 其他类型核苷碱基的合成	61
一、概述	61
二、蝶啶衍生物的合成	64
参考文献	71
第四章 核苷糖基化合物的化学合成	74
第一节 核糖的化学合成	75
一、核糖的合成	75
二、带有保护基的核糖衍生物制备	82
三、由核苷制备核糖衍生物	84
第二节 脱氧核糖类化合物的化学合成	86
一、2-脱氧核糖的化学合成	86
二、3-脱氧核糖的化学合成	96

三、2,3-双脱氧咪唑(核)糖衍生物的化学合成	98
四、5-脱氧-D-咪唑核糖类衍生物的化学合成	104
五、1-脱氧-D-咪唑核糖(1,4-脱水-D-核糖醇)衍生物的化学合成	105
六、小结	111
第三节 无环和其他环状核苷糖基的化学合成	112
一、无环核苷糖基的化学合成	113
二、L-核苷糖基衍生物的化学合成	119
三、二(羟甲基)-分支化核苷糖基及其扩环衍生物的化学合成	128
第四节 碳环假糖(Carbocyclic Pseudo Sugar)类化合物的化学合成	137
一、碳环核苷和碳环假糖	137
二、化学拆分法制备碳环假糖(包括酶拆分法)	138
三、不对称合成法制备碳环假糖衍生物	141
四、应用手性原料制备碳环假糖衍生物	143
五、分支化戊环、丁环和丙环假糖衍生物的合成	148
第五节 含硫环糖(Thiocyclosugar)基类似物的化学合成	155
一、D-硫核糖类衍生物的化学合成	155
二、4-硫-1,4-脱水-D/L-核糖醇(N-异硫核苷糖基)衍生物的化学合成	160
三、4-硫-L-环戊糖(噻吩型)衍生物的化学合成	161
四、氧硫戊环糖(Oxathiolane Sugar)衍生物的化学合成	164
五、其他类型的含硫环糖类类似物	167
第六节 氮杂核苷(Azanucleosides)的氮杂糖基衍生物化学合成	168
一、氮杂核苷和氮杂糖基	168
二、N-氮杂核苷糖基的化学合成	169
三、C-氮杂核苷糖基的合成	172
四、N,N-氮杂核苷及其糖基的化学合成	178
五、其他类型氮杂核苷和异噻唑啉或异噻唑利啉核苷糖基衍生物的合成	179
六、氮杂环丁烷核苷(Azetidinyl Nucleosides)糖基的化学合成	182
七、具有独特生物活性的氮杂环糖类衍生物的化学合成	182
第七节 二氧磷基核苷(Phosphonucleosides)糖基衍生物	186
第八节 吡喃型核苷糖基的类型简介	186
参考文献	188
第五章 核苷的化学合成	196
第一节 重金属盐法合成核苷(Fisher-Helferich-Davoll 合成法)	196
一、Fischer-Helferich 法(F-H 法)的缺陷与 Davoll 法对 F-H 法的优化	197
二、Fischer-Helferich-Davoll 合成法可能的反应机理	198
三、Fischer-Helferich-Davoll 核苷合成法(汞盐法)在 2'-脱氧核苷合成中的应用	199
四、Fischer-Helferich-Davoll 合成法的重要改进	200
第二节 经典的 Hilbert-Johnson 核苷合成法和 Silyl-Hilbert-Johnson 反应	202
一、经典的 Hilbert-Johnson 反应及其在合成嘧啶核苷衍生物中的作用	202
二、Silyl-Hilbert-Johnson 反应	203
三、Friedel-Crafts (F-C) 催化剂作用下的 Silyl-Hilbert-Johnson 反应	205
四、以 TMSOTf 作 F-C 催化剂的核苷合成	210
第三节 熔融缩合法合成核苷(Helferich-反应)	215
一、熔融缩合法合成核苷的起源	215

二、熔融法合成核苷的一般反应过程和反应条件	215
三、熔融法合成核苷的反应机理讨论	216
第四节 核苷合成中的立体化学	218
一、核苷合成中的立体选择	218
二、核苷合成中的区域选择	221
第五节 嘧啶和嘌呤类 β -D-呋喃阿拉伯糖苷衍生物的合成	223
一、Silyl-Hilbert-Johnson 法合成阿糖嘧啶、嘌呤苷	223
二、熔融法合成阿糖核苷	225
三、以阿糖衍生物 330 为原料合成阿糖核苷衍生物的其他方法	226
四、仿生合成阿糖核苷衍生物	227
第六节 碳环核苷的化学合成	228
一、杂环碱基和碳环假糖的直接偶联成碳环核苷	229
二、以氨基环戊烷为基底合成碳环核苷	233
第七节 其他方法合成 C—N 键核苷	235
一、第六节方法在含杂原子糖环苷键化中的应用	235
二、其他多种合成核苷的方法	237
第八节 碳-核苷的化学合成	243
一、C-核苷的直接合成	243
二、以功能化糖基为基底合成 C-核苷衍生物	256
三、其他合成碳-核苷的方法	261
参考文献	262
第六章 核苷化学反应与核苷衍生物的合成	266
第一节 糖基转移反应及其应用	266
一、糖苷转移反应使嘧啶类核苷转化为嘌呤类核苷	266
二、糖基转移反应使嘌呤核苷转为嘧啶核苷	268
三、核苷中糖基的更换和转换中糖基的变化	269
第二节 嘌呤核苷中碱基的反应	269
一、腺苷 N^6 -氨基上的反应	270
二、腺苷 6-位上的取代反应	275
三、腺苷 8-位上的化学反应	278
第三节 嘌呤核苷中糖基的反应	281
一、2'-脱氧嘌呤核苷的化学合成	281
二、3'-脱氧嘌呤核苷的化学合成	287
三、2',3'-双脱氧嘌呤核苷的化学合成	288
四、5'-脱氧嘌呤核苷的化学合成	290
五、嘌呤核苷中 5'-位上的其他反应	291
第四节 嘌呤核苷中糖基配体(碱基)和糖基之间的化学反应	292
一、N(3),5'(或 2', 或 3')-环嘌呤核苷	292
二、环碳嘌呤核苷的化学合成	293
三、环硫嘌呤核苷的合成及其反应	294
四、环氮嘌呤核苷和环氧嘌呤核苷的合成	295
第五节 嘧啶核苷碱基上的反应	296
一、嘧啶核苷碱基上的反应概述	296
二、卤化反应	297

三、羟甲基化反应	300
四、硝化反应	302
五、嘧啶核酸碱基的光化学问题	307
六、嘧啶核苷碱基上的其他反应	310
第六节 嘧啶核苷糖基上的反应	315
一、2'-脱氧嘧啶核苷的制备	316
二、3'-叠氮基-3'-脱氧胸苷 (AZT) 和类似物的合成以及相关衍生物 (氨基糖核苷, Amino Sugar Nucleosides) 的制备	319
三、2',3'-双脱氧-2',3'-双脱氢-和 2',3'-双脱氧嘧啶核苷 (d4N 和 ddN) 的合成	321
四、闭合的三环核苷 (Locked tricyclic nucleoside) 的合成	329
第七节 非环核苷与 2'-氧-烷基核苷的化学合成	330
一、非环核苷的化学合成	330
二、2'-氧-烷基核苷的化学合成	332
参考文献	336
缩略语和符号表	341

第一章 核苷的化学结构和应用

第一节 核苷的化学结构

一、核酸化学的历史

核酸这一生命大分子（也即遗传物质）相对于其他生命分子如脂肪、糖类和蛋白质来说，是最后被人类意识到和发现的，直到 20 世纪 50 年代，人们才完全认识到它对于生命的极端重要性。核酸的发现起源于此前的 100 多年。

在 19 世纪 30 年代后期，德国植物学家 Schleiden 和动物学家 Schwann 根据他们的观察和总结前人工作的基础上，提出了细胞学说：“一切生物，从单细胞生物到高等动物和植物都是由细胞组成的，细胞是生物形态结构和功能活动的基本单位。”这一学说的建立，为遗传化学物质的发现提供了范围和基础。生命是细胞的繁衍、更替和重建，遗传物质必然存在于细胞之中。1847 年，Liebig 从细胞中分离出世界上第一个核苷化合物，标志着遗传物质化学即“核酸化学”的开创，第一个核苷的正确结构直到 1911 年才由 Levene 和 Jacobs 确认为：次黄嘌呤核苷（Hypoxanthinriboside）的 5'-磷酸酯。

1865 年奥地利人孟德尔（G. Mendel）发表了豌豆杂交实验的结果，创建了基因的概念，启动了现代遗传学的发展。

1866 年 Haeckel 提出，细胞核可能含有传递遗传信息所必需的所有“因子”。当时人们已经了解到蛋白质是人体最重要的构成物质，因此都认为这种因子应是蛋白质。

1868 年 Miescher 以绷带上的人体脓液为研究对象（因为脓液中存在大量白细胞）进行细胞物质的分离，在实验中发现，细胞中含有一种与所有当时已知的蛋白质性质都不同的物质，经化学分析发现，这种物质除含有 C, H, O, N 外，还含有磷（P）。他还发现，这一物质只有当细胞在弱碱作用下才会得到，通过显微镜观察，他看到弱碱溶液会使细胞核膨胀而破裂，因而他推断该新物质出自于细胞核。为了证明自己的假说，他发明了将细胞核从细胞中分离出的方法。1869 年，Miescher 终于确认这种新的物质来源于细胞核，此外他还从酵母、肾脏、红细胞等细胞中分离出相同的物质，于是他将这种新物质称为核素（Nuclein）。这一发现奠定了核酸化学、分子生物学和分子遗传学的基础。

1870 年以后，Miescher 继续围绕核素问题进行研究，这时他开始以细胞核占有 90% 以上质量的鲑鱼精子作为研究材料，经研究发现核素是一种不能透过羊皮纸滤膜的大分子，并且具有酸性成分，也即为今日人们熟知的 DNA 大分子。

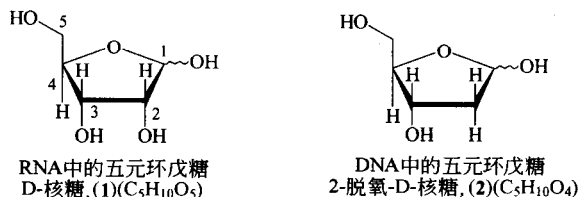
Miescher 的学生 Altmann 继承了对细胞核素的研究事业，他在 1889 年成功地创立了分离不含蛋白质的纯核素的方法，并于 1899 年将这种不含有蛋白质的核素给予新的名称：核酸（Nucleic acid）。

自 Miescher 发现核酸以后，核酸这一研究领域引起许多化学家、生物学家和医学家极大的兴趣，他们为揭示核酸的化学组成、结构、功能和作用以及提取和合成做出了巨大的贡献。

1879~1903 年，化学家 Kassel 和他的合作者利用多种不同的方法分离并确定了核酸分

子中的氮杂环核酸碱基：单环结构的嘧啶类的胞嘧啶和胸嘧啶，双环结构的嘌呤类的次黄嘌呤，腺嘌呤和鸟嘌呤（鸟嘌呤在 1844 年已被人们从鸟粪中分离出）。正常核酸中的第五种核酸碱基：尿嘧啶是由 Ascoli 于 1900 年从酵母核酸中分离确定的。至此，核酸中所有基本碱基均已确定。

Levene 和 Jacobs 在 1908~1911 年间的研究，从酵母核酸中首次分离出 D-核糖（D-ribose, 1）晶体，并且确定核酸中糖部分为五元环戊糖，而不是长期以来人们所假设的六元环己糖。这两位科学家对核酸化学另一大贡献是，定义了两个新概念：核苷（由一个氮杂环碱基与戊糖偶联的分子）和核苷酸（被磷酸酯化的核苷）。



Levene 在核酸化学组成方面进行了长达 20 多年的研究，直到 1929 年他和他的合作者通过酶的降解和酸性水解，成功地获得 2-脱氧-D-核糖（2-deoxy-D-ribose, 2）。这一发现清楚地表明核酸存在两种类型：核糖核酸（RNA）和脱氧核糖核酸（DNA）。

在细胞核中（或在染色体中）的核酸为 DNA，它含有腺嘌呤（Adenine，简写为 A），鸟嘌呤（Guanine，简写为 G），胞嘧啶（Cytosine，简写为 C）和胸腺嘧啶（Thymine，简写为 T）；而主要存在于细胞质的核酸为 RNA，它除含有 A, G, C 外还含有尿嘧啶（U），但不含 T，这是 DNA 和 RNA 的另一大区别。至此，可以看到化学家 Levene 对核酸的分析和核酸化学成分研究的贡献是巨大的，他使核酸与蛋白质从化学结构上区别开来。由于当时人们对蛋白质的作用已有较多的认识，大多数生物化学家都认为遗传物质是蛋白质，在这种思想的影响下，Levene 提出 DNA 的四核苷酸假说，即 DNA 大分子中四种碱基呈完全相同比例的重复排列，即嘧啶接着嘌呤再接着嘧啶……如 ACGT 等，碱基连在核糖基上，核糖基又与磷酸基相连，DNA 没有包含和传递信息的作用，其作用就是提供蛋白质可以依附的空间结构。Levene 的这一理论直到 1943 年由 Avery 等人的研究成果所动摇。Avery 等人用了近 10 年的时间，研究了促使 R 型肺炎双球菌向 S 型肺炎双球菌转化的物质，他们使用逐一排除法和认真的化学分析，最终确信使细菌类型转化的遗传物质是 DNA。

Avery 的结果由 Hershey 和 Chase 的著名实验得以证实，Hershey 和 Chase 研究了噬菌体（它是一种仅由蛋白质外壳包裹遗传物质 DNA 的病毒）攻击细菌，繁殖复制过程，表明用病毒证明遗传物质是 DNA 比用细菌研究更直接，更有说服力。那时人们通过电子显微镜观察到噬菌体的形态，并知道噬菌体附着在细菌细胞上后，会在细胞壁上钻孔，将其蛋白质外壳包裹的 DNA 注入细菌细胞中，不久细菌细胞破裂，释放出许多新的噬菌体。Hershey 和 Chase 用带有放射性³²P 标记的 DNA 和带有放射性³⁵S 标记其外壳的噬菌体做实验，用韦林搅拌机搅拌，将噬菌体的空外壳从细菌表面甩下，经分离，他们发现被侵染细菌中有放射性³²P 标记的 DNA，而新噬菌体中同样含有放射性³²P，而其外壳无放射性³⁵S，这充分证明遗传物质是 DNA，彻底否定了蛋白质是遗传物质的陈旧思想，对核酸化学领域的研究起着巨大的推动和鼓舞作用，吸引了更多的科学家投身到该领域，并且在短短的 10 年多时间内，完成了核酸化学结构确立和遗传密码的发现。

对于核酸大分子的结构确立，以下科学家的研究成果起到根本的作用：首先是 Todd 研究小组确定氮杂环碱基和核糖之间的以 β -N-糖苷键的形式连接；而核苷之间是在糖的 3'-和 5'-位上通过磷酸二酯键相连，由此构成线性生物大分子。

Chargaff 等在 20 世纪 40 年代末用纸层析技术成功地对核酸进行了分析，发现不同的 DNA 样品中碱基的数量并不完全相同，也就是说由 Levene 提出的四核苷酸假说不符合真实结果，DNA 分子并不是 ACGT 的简单重复，不同样品的 DNA 分子量也不是 ACGT 短核苷酸分子量 1227 的倍数。于是 Chargaff 提出被人们称为的 Chargaff 比率，在 DNA 中，嘌呤 (G+A) 的总数=嘧啶 (C+T) 的总数，且 A 的数量=T 的数量，G 的数量=C 的数量。这些结论对下一阶段生命分子 DNA 是双螺旋体的发现至关重要。

1953 年 Watson 和 Crick 在汲取各学科科学家的见解，综合各方面的最新结果后提出 DNA 是一个右螺旋体结构的大分子，双螺旋体的两链由核糖和磷酸连接而成，碱基在链内侧准确地按 A-T, G-C 配对，而 A 与 T, G 与 C 以氢键形式相配，从而回答了螺旋是如何结合与复制。这一永载科学史册的原创性成就综合了以下主要科学成果。

Pauling 等人用量子物理学理论对蛋白质大分子的螺旋结构的解释，以及 Pauling 用三螺旋体阐述 DNA 结构的尝试（是在没有清晰的 DNA-X 光衍射图像的条件下）；Chargaff 比率；Wilkins 和 Franklin 无私地提供准确的 DNA-X 光衍射图像照片；Donohue 关于分子间多种形态（核酸碱基烯醇与酮互变）和氢键方面的知识。

生命分子是右螺旋体这一发现为分子生物学、核酸化学以及相关学科翻开了新的一页，为以后探求遗传密码、核酸的功能与应用、核苷酸和反义核苷酸的合成扫清障碍。

Watson-Crick 的 DNA 双螺旋体具有重要的特点：其一，两条以氢键形式相连的螺旋链是互补的，只要知道其中任一条链的碱基排序情况，就会立即按 A-T, G-C 配对原则而知道另一条；其二，它提供了简单的生命分子自我复制的方法，这种被称为半保留复制（即一条双螺旋体 DNA 链，其复制时是每条原始链分别复制出与它们互补的子链，并和子链形成新的双螺旋体）被 Meselson 和 Stahl 的完美实验所证实，他们用在 ^{15}N 介质中培育的大肠杆菌为研究材料，观察它们不同复制代中的含 ^{15}N 的 DNA 分布情况，得出按化学法则构成 DNA 大分子的各条链会一成不变地从上代细胞传到下代细胞中。

二、核酸化学结构

从 19 世纪 60 年代起到 20 世纪的 50 年代，从孟德尔用生长期长，结构复杂的豌豆杂交试验，到后来使用果蝇，细胞，细菌，直到 Avery 研究病毒来揭示遗传物质的化学结构和作用秘密，研究材料由复杂变为简单是必然，这是因为生物体越小，繁殖的速度越快，它含有的附属物越少，其遗传物质在整个生物体所占的份额越大，由此而发现的自然规律就越普遍，越本质，越简单。所以从化学结构上看，生命大分子——遗传物质核酸的化学结构相对来说是简单的，不论在植物、动物和人体中都一样。从化学结构看，核酸是以核苷酸为基本单位，通过磷酸酯的形式（3',5'-磷酸二酯）组成的生物多聚体。而核苷酸的次级单位是磷酸和核苷；核苷是由核糖和核酸碱基以 β -N-糖苷键的形式而构成（图 1-1）。

两种不同的核糖将核酸分为两类核酸，即 DNA 和 RNA。不管在 DNA 中的 2-脱氧-D-核糖，还是 RNA 中的 D-核糖都是以环戊糖的形式，即呋喃糖的形式出现，核糖中的 1-位 C 原子和碱基中的 N 原子形成 β -N-糖苷键，核苷中糖的 3'-位和 5'-位羟基通过和磷酸形成酯，将不同的核苷连成长链，形成核酸或核（甘）酸片断。

同样，也可根据碱基的不同，将核苷分为嘧啶类核苷，嘌呤类核苷。

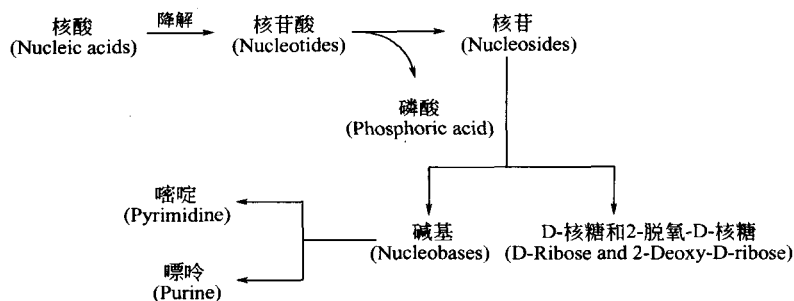


图 1-1 核酸的化学组成

(一) 嘧啶类核苷 (Pyrimidine-Nucleosides)

嘧啶或称间二嗪是芳香类氮杂环化合物，它和苯与吡啶一样是芳香六元环。1884 年由 Pinner 确证这类化合物的结构，并且研究它们具有的芳香化合物特性和某些嘧啶衍生物所表现出的酰胺性质，将这类杂环化合物命名为嘧啶。

核酸水解分离出的碱基中属于嘧啶类衍生物的主要有（在生物体细胞中还存在修饰性的核苷，修饰性核苷种类多达百种，修饰绝大多数都是发生在碱基上，嘧啶类和嘌呤类碱基都有）：尿嘧啶，胸腺嘧啶和胞嘧啶。而尿嘧啶存在于 RNA 中，胸腺嘧啶在 DNA 中出现，胞嘧啶在这两种核酸中都存在（图 1-2）。

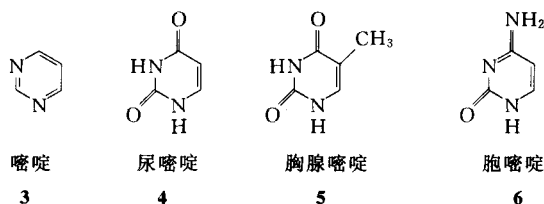


图 1-2 核酸中的嘧啶类碱基 U, T 和 C

关于核糖或脱氧核糖通过 N-糖苷键和嘧啶的 N-1 偶联，现在已被大家接受了，但在当初人们应用许多物理方法都不易证明，直到应用晶体 X 光衍射法后，又经过一系列的化学试验才完全证明糖苷键的正确位置。例如若核糖在嘧啶的 O⁴-位形成糖苷键，人们则无法解释胞苷用亚硝酸处理后，转变为尿苷的事实。以相类似的合理分析方法，如果糖苷键在嘧啶的 C-5 或 C-6 上形成，则尿苷也无法经取代反应得到如 5-溴-和 5,6-二-(苯肼基)-尿苷等相应的取代产物。若糖苷键在嘧啶的 O²-位上，则这样的核苷相对于酸性水解是不稳定的；另外，再如尿苷经脱水剂（如碳酸二酯）处理后，很易得到 2,2'-脱水尿苷（环醚形式），如果糖苷键在 O²-位则无法得到这样的脱水产物。所以，这些化学实验都充分证明：嘧啶核苷一定是 N-糖苷键（图 1-3）。

那么糖苷键是在嘧啶的 N-1-还是在其 N-3-位上，可以通过间接化学方法加以证明，尿苷在重氮甲烷 (Diazomethane) 的作用下甲基化，接着进行酸性水解，即可得到 3-甲基尿嘧啶，它和 1-甲基尿嘧啶在光谱等物理性质方面有极大的区别。再经现代 X 光衍射结构分析等手段，均充分证明天然嘧啶类核苷的所有核苷键在嘧啶环的 N-1-位上，其结构如图 1-4，它们的命名分别与它们的杂环碱基相对应，分别为胸苷，尿苷和胞苷（注：在核苷和核苷酸分子中，核糖环上的原子编号是 1', 2', 3', 4', 5'，以区别嘌呤和嘧啶环的 1, 2, 3, 4...）。

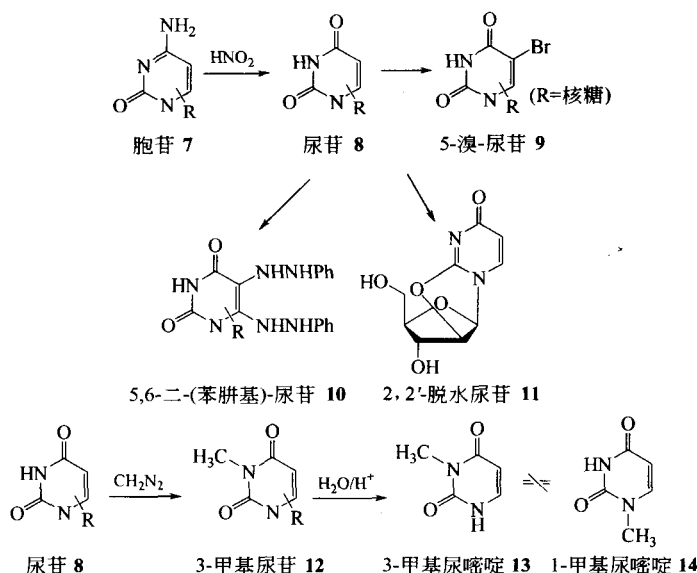


图 1-3 嘧啶类核苷 N-1-糖苷键的化学方法证明试验

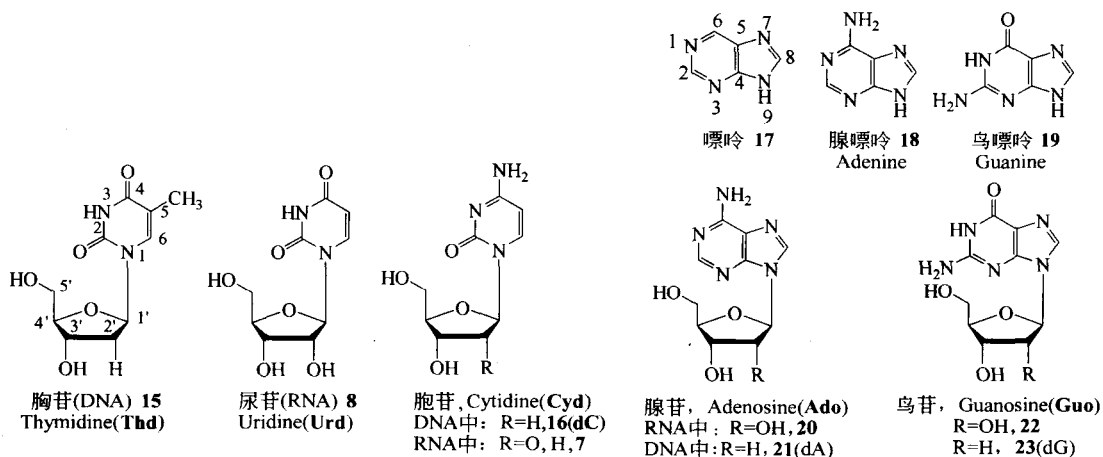


图 1-4 DNA 和 RNA 中的嘧啶类核苷

图 1-5 DNA 和 RNA 中的嘌呤碱基和嘌呤类核苷

(二) 嘌呤类核苷

腺嘌呤和鸟嘌呤是 DNA 和 RNA 中的两个天然碱基，它们属于嘌呤类化合物。嘌呤分子是氮杂双稠环结构，由嘧啶环和咪唑 (imidazole) 环相并而成 (图 1-5)。特别需指出的是嘌呤环在命名时，分子中的每个原子都要编号，包括两个桥头碳原子；编号顺序是按习惯而固定的，这两点不同于其他的双或多稠环体系的命名规则。

嘌呤这样结构的化合物首次于 1895 年由 E. Fischer 等人用化学方法合成制得，他们合成的第一个嘌呤化合物是尿酸。嘌呤的命名也是由 Fischer 用拉丁语的 Purum 和 Uricum 组合而成：Purine (嘌呤)。

在嘌呤类核苷 (Purine-Nucleosides) 中还有一个重要的核苷为肌苷 (Inosine，或者称为次黄嘌呤核苷)，在 DNA 中存在，它和鸟苷一起作为 DNA 的分解产物，是最先被分离出来的嘌呤类核苷。和嘧啶类核苷一样，对于嘌呤类核苷的结构阐明仍需要基本的化学反应来

证明。

首先在不影响糖苷键稳定性的情况下，人们对腺苷和鸟苷分别用亚硝酸来处理，将氨基转化为羟基，生成相应的次黄嘌呤和黄嘌呤核苷（在生物体内腺苷和胞苷一样，很容易在酶的作用下，脱氨基分别转化为肌苷和尿苷，同样在用化学品处理核苷时，也会使这两个核苷碱基中的氨基转为羟基）；另外，嘌呤类核苷和嘧啶类核苷一样，可以轻松地经酸性水解得到嘌呤碱，以及腺苷经溴化后也易得到 C-8 的溴化物，综合以上化学反应结果可见嘌呤核苷的糖苷键不在碱基的侧链上，也不是 C-糖苷键，必然和嘧啶核苷一样是 N-糖苷键。

对于是否为 N-1 或 N-3（嘌呤的嘧啶环上）的糖苷键，以下事实已予否定：鸟苷经脱氨基转化为黄嘌呤核苷（25），25 在重氮甲烷作用下，得到相应的甲基化产物茶碱核苷（Theophylline-Nucleoside, 26，或称 1,3-二甲基黄嘌呤核苷，见图 1-6）。

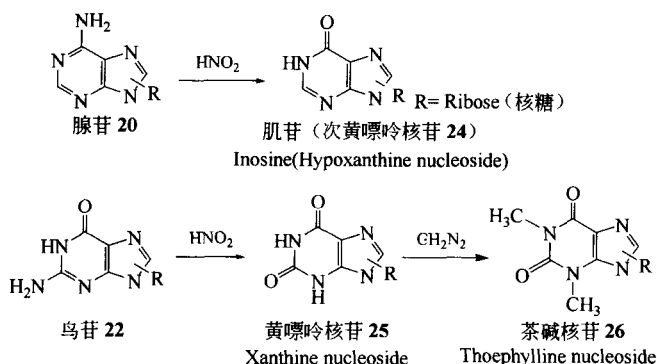


图 1-6 关于确定嘌呤类核苷 N-9-糖苷键的化学反应

因此，嘌呤类核苷中的糖苷键仅可能是在咪唑环上的 N-7 和 N-9 位上。对糖苷键的位置确定人们借助紫外 (UV) 吸收光谱成功地获得清晰的证明，如 Gulland 等人利用 UV-吸收光谱的性质，即杂环化合物 N-糖苷键的 UV 光谱吸收特性和嘌呤相应位置上有取代基（如烷基）时的光谱吸收特性一致，例如腺苷的 UV-吸收光谱 $\lambda_{\text{max}} = 262\text{nm}$ ，同样 9-甲基腺嘌呤的 UV-光谱吸收带在 260nm 也有最大吸收峰 ($\lambda_{\text{max}} = 260\text{nm}$)，但 7-甲基腺嘌呤的 UV-吸收光谱则有明显的区别， $\lambda_{\text{max}} = 270\text{nm}$ ，通过比较可知腺嘌呤核苷的 N-糖苷键在 N-9 位上。鸟苷的 UV 光谱数据同样地和 9-甲基鸟嘌呤一致。所以，嘌呤类核苷的糖苷键在 N-9 位上。

另外，核酸中除存在着以上所述的五种主要核苷外，在活细胞的核酸中，常因核酸的来源不同（如物种，不同组织等），可分离出一些修饰性核苷，也常称为“稀有核苷”。在不同的生物体中被修饰的程度也不一样，有的占核酸总量的万分之几，有的高达近 16%。修饰常发生在碱基上（如甲基化等），也有少量在糖环上。至今，绝大多数稀有核苷的结构已被确定，其中 40 多个稀有核苷的生物功能已被研究清楚，其余大多数稀有核苷的生物功能有待于研究，稀有核苷长期以来一直是遗传学家，生物化学家，医学家等关注的问题。

（三）核苷和脱氧核苷的化学性质的区别与糖苷键的差向异构

RNA 中的核糖的 2'-位上存在一个羟基，这不但直接地影响到 RNA 的结构和 DNA 结构上存在着很大的区别，而且在核苷和脱氧核苷的化学性质上也有着很大的差异。这些化学性质的差异除了在脱氧核苷和核苷的化学合成中得到充分体现外（详见第五章），其中一个

重要化学性质成为区别这两种核苷结构的方法。因为 D-核糖的 2,3-位上有羟基,即存在邻二醇的结构形式,邻二醇在水溶液中,室温下能被过碘酸(HIO_4)断键氧化为二醛,所以一般地 D-核苷中的核糖可被过碘酸氧化成开环的二醛,形成无环核苷,而脱氧核苷和 HIO_4 不发生这种氧化反应,见图 1-7。

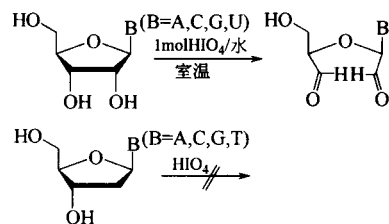


图 1-7 核苷和脱氧核苷在化学性质上的区别

这一氧化反应常在核苷的水溶液中进行,几乎定量地将核苷中的核糖氧化开环。 HIO_4 氧化邻二醇只适用于顺式(或同侧)二羟基化合物,对于反式异构体不发生反应,因而用此法也不能使非天然的阿拉伯糖苷和木糖苷的糖环氧化开环。

在天然核苷中(包括脱氧核苷),碱基和核糖环所形成的糖苷键处于 β -构型,即在将五元核糖环视为平面时,糖苷键和 5'-亚甲基羟基均在糖平面的上侧(或处于同一侧)。相对这一构型的是 α -差向异构体,5'- CH_2OH 与糖苷键处于核糖平面的两侧,属非天然的结构型式。

对于天然存在的 β -构型糖苷键有一系列的化学反应可以证实之,这主要的是一些环核苷形成的反应,只有当 5'- CH_2OH 与核苷碱基同在核糖环的同侧才可发生(见图 1-8), α -差向异构体不可能形成类似的环核苷。

(四) 核苷的构象

核酸(或核苷酸)是由核苷与磷酸组合而成的,在这生物多聚物中磷酸在结构组成上没有变化,只有核苷(包括脱氧核苷)在结构组成上有改变,核苷分子化学结构上的改变对核酸的生物功能,核酸的三维空间的精细结构,细胞中分子内和分子间的相互作用都有很大的影响。

然而对单个核苷分子来说,它们是一个较复杂的分子,通过多种物理方法,如核磁共振, X 光衍射,紫外光谱,旋光度和圆二色性等测定和计算,可发现单个核苷分子存在着多层次的立体化学,即复合的构象变化。这些构象性质和立体变化对核酸的上述作用同样具有深刻的影响,下面将对核苷的构象等立体性质作简单的介绍(要较全面和深刻地认识核苷构象性质,及其对核酸的影响可阅读有关结构分子生物学方面的书籍^[1])。

1. 核苷碱基的几何性状

核苷碱基的立体化学也称几何性状是被研究得较详细的,这是由于它对核酸的生化性质和核酸的结构来说是很重要的影响因素,这种因素的作用在当初克里克和沃森确立 DNA 双螺旋体结构时表现得最充分,这两位科学家当时就把嘌呤和嘧啶碱基设为平面结构,从而设想出碱基在双螺旋体中央经氢键进行 A-T, C-G 配对,完成 DNA 结构的发现。以后的研究测定表明,两类杂环碱基主要呈平面状态,嘧啶碱基是具芳香性质的杂环化合物,应呈平面,但由于三个嘧啶碱基均有内酰胺结构,所以嘧啶环上的各个原子都有偏离平面结构的现象,相对非芳香类嘌呤杂环碱基来说,嘧啶环上各原子的偏离

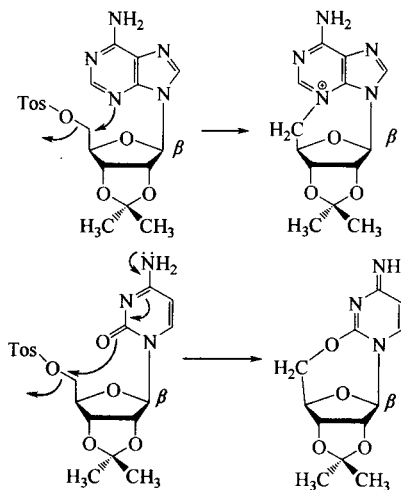


图 1-8 通过环核苷的形成证明天然核苷的糖苷键为 β -构型