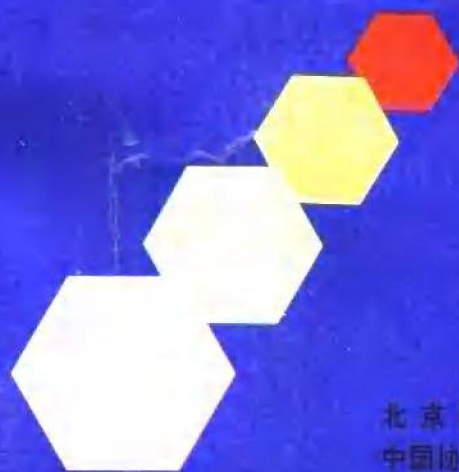


# 核酸药物化学

张亮仁 于宏武 张礼和 编著



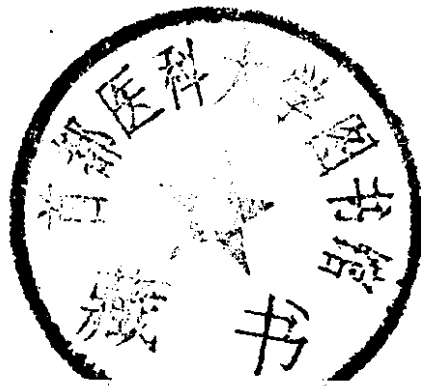
北京医科大学 联合出版社  
中国协和医科大学

R914  
ZLR

# 核酸药物化学

张亮仁 于宏武 张礼和 编著

YX109/27



A0285590

北京医科大学 联合出版社  
中国协和医科大学

(京)新登字 147 号

图书在版编目 ( CIP ) 数据

核酸药物化学 / 张亮仁等编著. - 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1997.4

ISBN 7-81034-697-0

I. 核... II. 张... III. 核酸-药物化学 IV. R914

中国版本图书馆 CIP 数据核字 ( 97 ) 第 00550 号

责任编辑: 丁 磊

责任印制: 郭桂兰

北京医科大学  
中国协和医科大学 联合出版社出版发行

( 100083 北京学院路 38 号 北京医科大学院内 )

泰山新华印刷厂莱芜厂印刷 新华书店经销

※ ※ ※

开本 850 × 1168 1/32 印张 10.125 字数 263 千字

1997 年 4 月第 1 版 1997 年 4 月 北京第 1 次印刷 印数 1 - 2000 册

定价: 16.20 元

## 内 容 提 要

以核酸为作用靶的药物研究是近年来药物研究的一大热点。本书首先从化学角度对组成核酸的结构单元核苷、核苷酸进行了较详细的论述，内容涉及结构、合成、化学反应等，并对具有抗肿瘤、抗病毒活性的核苷类似物重点进行了叙述，力求使读者对核苷类药物研究领域有一个较全面的了解。反义技术是基因治疗的一个重要方面，本书从多核苷酸的组建入手，对反义核酸的结构、功能进行了讨论。在全书的最后，对各种以核酸为靶点的抗癌药物包括临床上使用的沟结合药物的作用机理进行了简单介绍。

本书可供药物化学、有机化学等相关专业的高年级学生及研究生作为教学参考书，也可供广大药物化学研究人员参考使用。

# 序

“核酸化学”作为这一领域研究生的必修课和药物化学专业和化学专业本科生的选修课在北京医科大学药学院已开设了将近十年。开始由我主讲这门课并编写了一个简单的讲义。以后闵吉梅教授、王春光副教授、张亮仁副教授都主讲过这门课，讲义也不断补充和更新。为了满足今后教学的需要，在这本书中我们在讲义的基础上补充了近年来这一领域的新进展，同时参考了“Nucleic Acids in Chemistry and Biology”（M. G. Blackburn 和 M. J. Gait 编著，1992）、“Oligonucleotide Synthesis — a Practical Approach”（M. J. Gait 编著，1984）以及“The Organic Chemistry of Nucleic Acids”（Y. Mizuno 编著，1986）等专著的部分内容。

核酸化学近年来取得了飞速发展，从它的内容看已经不仅仅只是一个化学学科，而越来越显示出多学科协同发展的特点。对于核苷、核苷酸这类小分子的合成和结构改造的化学方法已经比较成熟，结构类似物和衍生物在文献中层出不穷。结构类型已从正常的核苷发展为双脱氧核苷、碳苷、碳环核苷、非环核苷、异核苷等，其中不少是有生物活性的化合物。目前临床上有效的抗病毒药大部分是核苷类化合物，如抗 HIV 的 AZT，ddI，ddC，抗疱疹病毒的无环鸟苷等。对于 DNA 和 RNA 这类生物大分子的结构和功能的认识也随着分子生物学、分子遗传学、基因治疗学等学科的发展也越来越深入。目前寡核苷酸的固相合成已成为分子生物学实验室中的常规方法，而寡核苷酸的组合化学合

成正在发展成为基因诊断、序列测定的新方法。由于反义技术的日趋成熟，对寡核苷酸的结构修饰提出了更高的要求。一系列不同的结构类型的反义寡核苷酸被相继合成，多肽核酸（peptide nucleic acid）的合成把多肽化学和核酸化学融为一体。酶性核酸（ribozyme）由于其催化 RNA 断裂和拼接的功能而第一次突破酶都是蛋白质的概念，并且在生命起源的研究中揭开了新的一页。近年来锤头型酶性核酸结晶结构的发表为解决这类分子的催化 RNA 断裂的机理提供了证据。这些基础理论的研究成果很快为生物学家所利用，一些生物学家已完善了在 T 细胞和 CD34<sup>+</sup> 细胞中表达抗 HIV 的酶性核酸的技术，据称近期即可用于临床。核酸大分子与药物小分子或与蛋白质大分子的相互作用也已成为研究大分子识别和药物的合理设计的基础。这些发展都说明了核酸化学与其他学科的相互依赖关系。因此对于学习这门课程的同学来说，除了具备基本的有机化学知识外，还应具备有关的生物学科知识。

在这本书的编写过程中，张亮仁副教授、于宏武博士在整理、编辑、打印、校对等方面付出了巨大劳动，我室何军林、周英、张立刚、张虎翼等博士后与博士研究生也为本书提供了部分内容。作者谨向他们表示感谢。

张礼和

北京医科大学天然药物及  
仿生药物国家重点实验室

1996 年 11 月

# 目 录

序 .....	1
第一章 核酸研究历史 .....	1
§ 1.1 核酸研究起源 .....	1
§ 1.2 核酸结构早期研究 .....	2
§ 1.3 DNA结构的发现 .....	6
§ 1.4 分子生物学研究进展 .....	9
§ 1.5 化学与生物学的结合 .....	11
§ 1.6 今后的发展趋势 .....	13
第二章 核苷、核苷酸和核酸的结构 .....	15
§ 2.1 概述 .....	15
§ 2.2 核苷及核苷酸的物理性质 .....	20
2.2.1 离子化 .....	21
2.2.2 互变异构 .....	23
2.2.3 氢键 .....	24
§ 2.3 核苷及核苷酸的光谱性质 .....	26
§ 2.4 核苷酸的形状 .....	27
2.4.1 糖环的折迭 .....	28
2.4.2 Syn-anti构象 .....	30
§ 2.5 核酸的结构 .....	32
2.5.1 核酸的一级结构 .....	32
2.5.2 DNA的二级结构 .....	36
2.5.3 RNA二级和三级结构 .....	40
第三章 核苷的化学合成 .....	45
§ 3.1 概述 .....	45
3.1.1 具有抗病毒活性的核苷 .....	45

3.1.2	核苷碱基的修饰	47
3.1.3	核糖部分的修饰	49
3.1.4	磷酸酯部分的修饰	54
§ 3.2	糖苷键的形成	56
3.2.1	碱基重金属盐缩合法	56
3.2.2	熔融合成法	57
3.2.3	季铵离子化法	58
3.2.4	碱基三甲基硅基衍生物法	59
3.2.5	糖苷键转移法	61
3.2.6	端基的立体化学控制	63
3.2.7	C - 核苷	68
§ 3.3	糖环C - 1位碱基形成法	69
3.3.1	碱基修饰核苷的合成	69
3.3.2	C - 核苷	71
3.3.3	碳环核苷	72
§ 3.4	非环核苷的合成	75
第四章	核苷的化学反应	76
§ 4.1	核苷糖部分的反应	76
4.1.1	邻近基团反应	76
4.1.2	取代和消除反应	79
4.1.3	氧化反应	81
4.1.4	烷基化反应	84
§ 4.2	核苷碱基部分的反应	85
4.2.1	C - X键的形成	85
4.2.2	C - O键的形成	87
4.2.3	C - S键的形成	91
4.2.4	C - N键的形成	92
4.2.5	C - H键的形成	94



4.2.6 C - C键的形成 .....	94
4.2.7 N - C键的形成 .....	96
§ 4.3 包括糖和碱基的反应 .....	97
4.3.1 环核苷的形成 .....	97
4.3.2 糖苷的转移 .....	108
第五章 核苷酸的生物合成 .....	111
§ 5.1 嘌呤核苷酸的生物合成 .....	112
5.1.1 从头合成途径 .....	112
5.1.2 补救合成途径 .....	120
§ 5.2 嘧啶核苷酸的生物合成 .....	121
5.2.1 从头合成途径 .....	121
5.2.2 补救合成途径 .....	125
§ 5.3 脱氧核糖核苷酸的合成 .....	127
§ 5.4 核苷酸的分解代谢 .....	131
§ 5.5 核苷酸的聚合 .....	134
5.5.1 DNA聚合酶 .....	134
5.5.2 RNA聚合酶 .....	135
第六章 糖环修饰核苷类似物的合成 .....	137
§ 6.1 概述 .....	137
§ 6.2 由核苷出发合成2',3'-双脱氧核苷及其类似物 .....	139
6.2.1 双脱氧核苷 (包括不饱和类似物) .....	139
6.2.2 取代双脱氧核苷 .....	143
6.2.3 氟代双脱氧核苷 .....	150
§ 6.3 双脱氧核苷及其类似物的从头合成 .....	153
6.3.1 双脱氧核苷和取代的双脱氧核苷 .....	153
6.3.2 碳环核苷类似物 .....	161
6.3.3 杂环类似物 .....	169
6.3.4 无环双脱氧核苷类似物 .....	172

§ 6.4 Oxetanocin及其类似物 .....	175
6.4.1 Oxetanocin及其衍生物 .....	175
6.4.2 Oxetanocin的碳环类似物 .....	178
第七章 核酸的化学合成 .....	182
§ 7.1 简介 .....	182
§ 7.2 核酸合成中的保护基团 .....	185
7.2.1 羟基保护基 .....	186
7.2.2 氨基保护基 .....	191
7.2.3 磷酸部分保护基 .....	195
§ 7.3 寡核苷酸的组建 .....	200
7.3.1 核苷磷酸的活化 .....	200
7.3.2 磷酸二酯法 .....	203
7.3.3 磷酸三酯法 .....	205
7.3.4 亚磷酸三酯法 .....	209
7.3.5 氢磷酸酯法 .....	214
§ 7.4 固相合成 .....	214
7.4.1 固相载体 .....	216
7.4.2 固相亚磷酸三酯法 .....	218
§ 7.5 固相合成的检测及方法 .....	224
§ 7.6 多核苷酸的分离纯化 .....	229
7.6.1 多核苷酸的分离纯化 .....	229
7.6.2 合成多核苷酸结构测定 .....	231
第八章 反义核酸 .....	233
§ 8.1 反义寡核苷酸的化学改造 .....	234
8.1.1 磷酸部分的改造 .....	235
8.1.2 核糖部分的改造 .....	240
8.1.3 杂环碱基的改造 .....	241
§ 8.2 反义寡核苷酸的作用机制 .....	241

8.2.1 抑制翻译机制 .....	242
8.2.2 抑制转录机制 .....	242
8.2.3 转录后过程抑制机制 .....	243
8.2.4 非序列专一性抑制机制 .....	243
8.2.5 RNase H机制 .....	244
8.2.6 有相互作用基团的反义寡核苷酸作用机制 .....	246
§ 8.3 反义寡核苷酸的性质 .....	247
8.3.1 反义寡核苷酸透过细胞膜的能力 .....	247
8.3.2 反义寡核苷酸的结合亲和性 .....	251
8.3.3 反义寡核苷酸的杂交专一性 .....	253
8.3.4 反义寡核苷酸的稳定性 .....	254
§ 8.4 多肽核酸 .....	256
8.4.1 多肽核酸的杂交性质 .....	257
8.4.2 多肽核酸的分子生物学研究 .....	258
8.4.3 多肽核酸的合成与改造 .....	259
§ 8.5 反义寡核苷酸的应用前景 .....	260
§ 8.6 酶性核酸 .....	261
8.6.1 酶性核酸的类型 .....	263
8.6.2 酶性核酸的改造 .....	264
8.6.3 酶性核酸的转运 .....	270
8.6.4 酶性核酸的应用前景 .....	271
第九章 以DNA为靶点的抗癌药物 .....	275
§ 9.1 以基因序列作为靶点 .....	276
§ 9.2 DNA序列具有专一性所必须的条件 .....	278
§ 9.3 DNA序列识别的分子结构方面的要求 .....	280
§ 9.4 以小沟作为靶点 .....	283
9.4.1 非共价复合物 .....	284
9.4.2 共价复合物 .....	292

§ 9.5 以大沟作为靶点 .....	295
§ 9.6 嵌合及DNA切割试剂 .....	298
§ 9.7 序列专一性和生物活性之间的关系 .....	301
参考文献 .....	305
缩写 .....	307

# 第一章 核酸研究历史

## § 1.1 核酸研究起源

核酸研究最早可以追溯到十九世纪六十年代，而叩响核酸奥秘大门之人则是一位年轻的瑞士科学家Friedrich Miescher（1844 ~ 1895）。Miescher出身于医学世家，但受其叔父Wilhelm Hiss的影响，投身于细胞的组织化学研究。他进入德国Tubingen大学后，以人的淋巴细胞生理学研究开始了他的研究生涯。因为原料来源方便，他以人脓细胞作为研究对象。他从当地外科诊所收集来绷带，把脓细胞用 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 溶液从绷带上洗下来，在将细胞用乙醇脱脂后，用猪胃蛋白酶粗品消化这些脓细胞，再用乙醚抽提，这样细胞核留在水相而沉积在容器底部。收集这些灰色沉淀物并用酸、碱处理后，Miescher得到了一个不溶于稀酸、但可溶于稀碱的含磷量较高（2.5%）的物质。这一结果引起了Miescher的重视，因为在当时从动物组织中得到的含磷化合物只有卵磷脂一种。Miescher把他新发现的化合物命名为“核素”（nuclein）。他后来又发现这种核素与从酵母、肾、肝及红血细胞中得到的核素具有相同的组成。1872年Miescher移居到Basel后，他发现蛙精子中含有更丰富的核素。纯核素是一种酸性物质，它与氮碱的盐形式结合而存在，Miescher将这种氮碱进行结晶并命名为“原胺”（protoamine）。实际上，Miescher得到的核酸是核蛋白，在

1889年由Richard Altmann得到了第一个不含蛋白质的核素，并被命名为核酸（nucleic acid）。

在Miescher进行核素研究的同时，由于Willism Perkins 1856年苯胺紫的发明，大大刺激了生物样品的染色系统研究。细胞核被碱性染料特征染色，并在1880年前后，Walter Fleming将这种性质应用于他的棒状染色体研究，使得能在细胞核中见到某些细胞分裂阶段。Fleming预测这种染色体的化学组成与Miescher的核素的化学组成相同，这一预测在1900年被E.B.Wilson证明。

## § 1.2 核酸结构早期研究

核酸的结构研究始于1909年，当时Levene Jacobs在Rockefeller研究所开始对核苷酸的结构重新进行研究。Liebig1847年从小牛肌肉中分离出的肌苷酸被证明为次黄嘌呤-核糖-5'-磷酸酯，从胰腺的核蛋白中分离出来的鸟苷酸被证明为鸟嘌呤-核糖-5'-磷酸酯（图1.1）。每种核苷酸都可被碱性水解而生成磷酸酯和相应的核苷，即肌苷和鸟苷。之后，所有的核苷都被确证为戊糖与氮碱的缩合产物，而核苷酸为戊糖的一个羟基的磷酸酯。

戊糖核酸可由酵母在氨水存在下水解而方便得到。可得到四种戊糖核苷，即腺苷、胞苷、鸟苷和尿苷，这些核苷被确证为腺嘌呤、胞嘧啶、鸟嘌呤及尿嘧啶的衍生物（图1.1）。这种戊糖核酸称为核糖核酸（RNA）。

容易从小牛组织中获取的胸腺核酸，有抗碱性水解的能力，直到1929年Levene采用酶水解脱氧核酸、接着用温和的酸水解脱氧核苷酸后，才成功地将其降解成脱氧核苷。因此胸腺核酸是脱氧核糖核酸。他确定了其戊糖是不为大家所熟悉的2-

脱氧-D-核糖，该脱氧核苷有四种杂环碱基，即腺嘌呤、胞嘧啶、鸟嘌呤和胸腺嘧啶，后者在核糖核酸中对应于尿嘧啶。

因多数来源于动物的核酸与胸腺核酸类似，而当时由植物制备的唯一的另一种核酸与酵母类似，因此给人一种印象，即胸腺型的脱氧戊糖核酸是动物组织的核酸，而酵母型的戊糖核酸是植物组织的核酸。由此，当时由人断言：“我们确知自然界仅存在两种核酸，一种来自于动物细胞，另一种来自于植物细胞”。直到40年代初，根据Caspersson紫外分光光度研究、Brachet的组织化学实验及Davidson的化学分析结果，才得到确凿论据，证明了DNA和RNA是所有动植物细胞的正常组分，DNA仅存于细胞核，而RNA也分布于细胞质中。

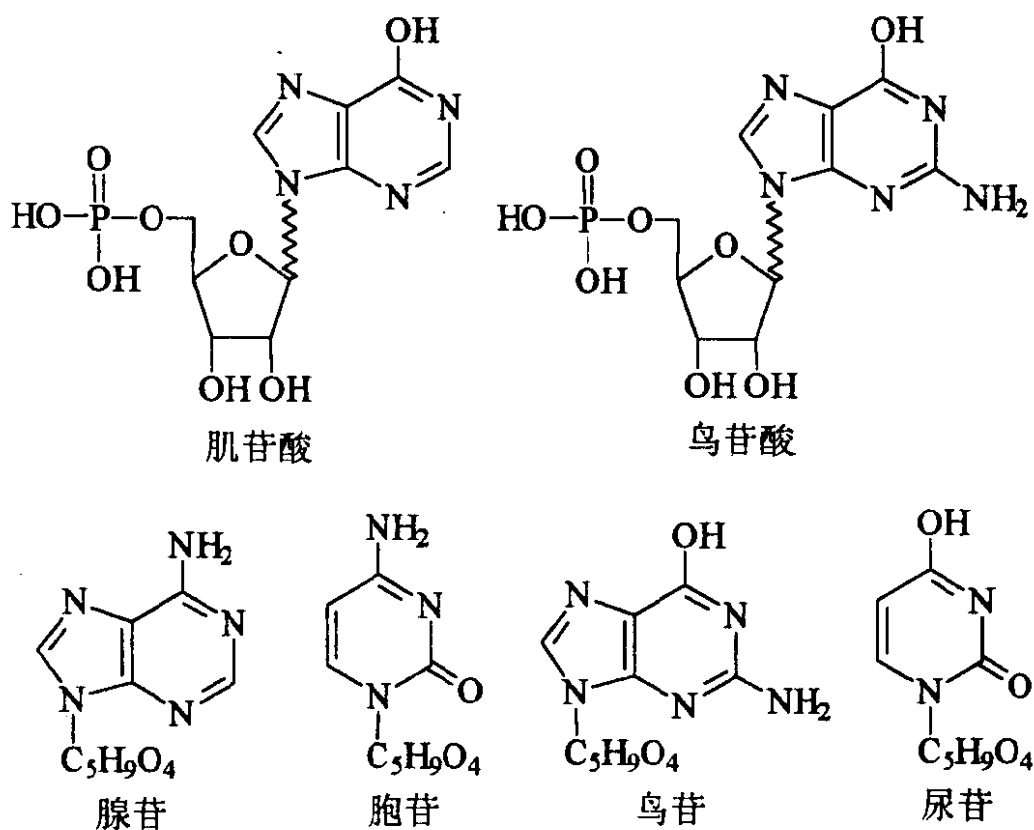


图1.1 早期核苷、核苷酸结构

到了1940年，大多数研究者相信核酸水解能得到相对等量的四种碱。这一错误的结论也许来源于核酸不纯或是采用了准确度和可靠性不够的分析方法。这一结论导致普通接受的胸腺和酵母核酸结构的“四核苷酸假说”，即所有的核酸都是由等量的四种核苷酸组成。这一假说阻碍了核酸分子结构研究的进一步发展。

提出的几种四核苷酸假说中，它们都有四种随意分布的核苷，即两种嘌呤核苷和两种嘧啶核苷，它们通过四种磷酸酯基以各种方式连接起来，其中以磷酸二酯键的连接方式为多。1932年Takahashi证明在酵母核酸中，既不含有焦磷酸也不含有磷酸单酯，因此他抛弃了原来的假说而提出了一个简单的环状结构模型，其中戊糖通过磷酸二酯键而连接起来（图1.2）。并接受了相邻脱氧核苷是5'-与3'-相连这一结构，但是核糖核酸的连接方式不清楚。

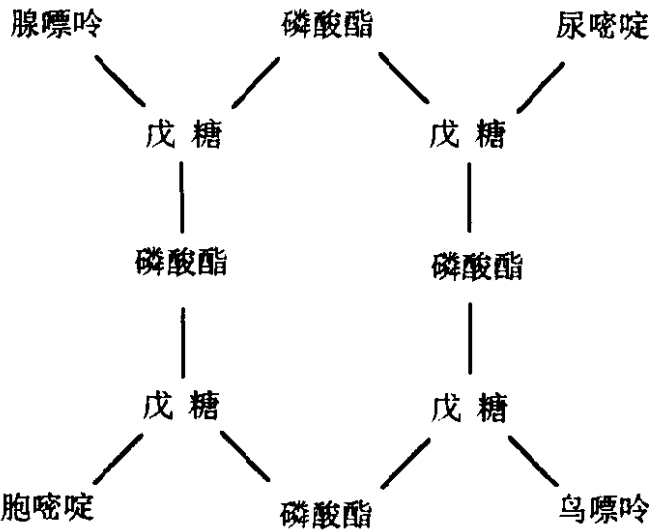


图1.2 Takahashi提出的核酸结构

使该图站不住脚的一个事实是核酸的分子量大大超出从四核苷酸计算的分子量。Einar Hammarsten在Stockholm获得了当时最好的一个DNA样品，他的一个学生Torjborn Caspersson发现该



分子大于蛋白质分子。Hammarsten的DNA由Rudolf Signer在Bern进行了检测，流动双折射分析结果表明DNA为分子量 $0.5 \times 10^6 \sim 1.0 \times 10^6$ 道尔顿的棒状分子。同一样品的Leeds的X射线衍射结果支持了Signer的结论，Levene根据超速离心研究结果推断DNA分子量在200 000 ~ 1 000 000。

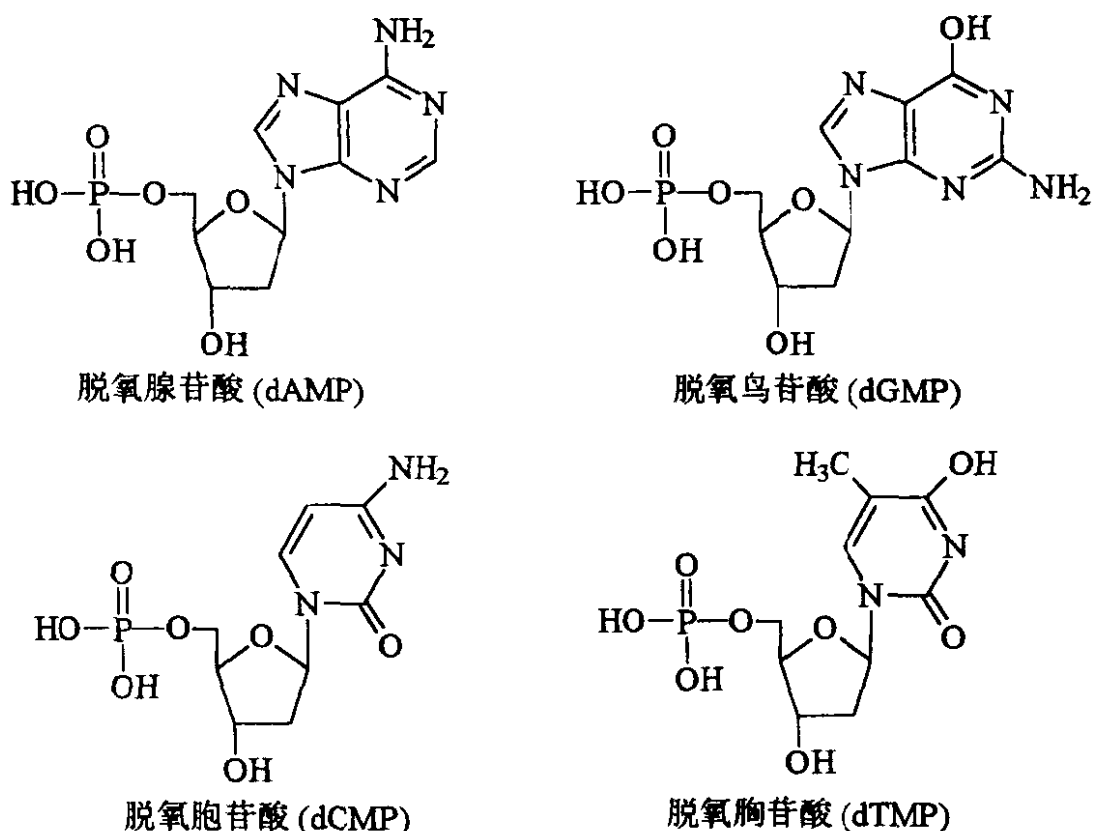


图1.3 5'-脱氧核苷酸的结构 (dGMP和dTMP为烯醇式互变异构体)

这些实验使人们的观念有所改变。1943年Masson Gulland在Tilden的演讲中建议停止采用核酸是聚合的均一四核苷酸的结构的概念，但他仍允许其作为一实用的假说。当Avery发表了有关细菌DNA转录活性的杰出工作时，已经到了1944年。四核苷酸假说导致核酸结构的不变性，而否定其在生物多样性中的作用，但Avery的工作表明DNA承担了细菌的转录行为，即核酸的结构是多样的，因此对核酸的结构必须有一个全面的认识。