

[$3\text{-}^3\text{H}$]-4 β , 15-二乙酰氧基-8 α -(3-甲基丁酰氧基)-3 α -羟基-12, 13-环氧单端孢霉-9-烯的合成

吴乾虎 李德有 龚雄麒

李志敏

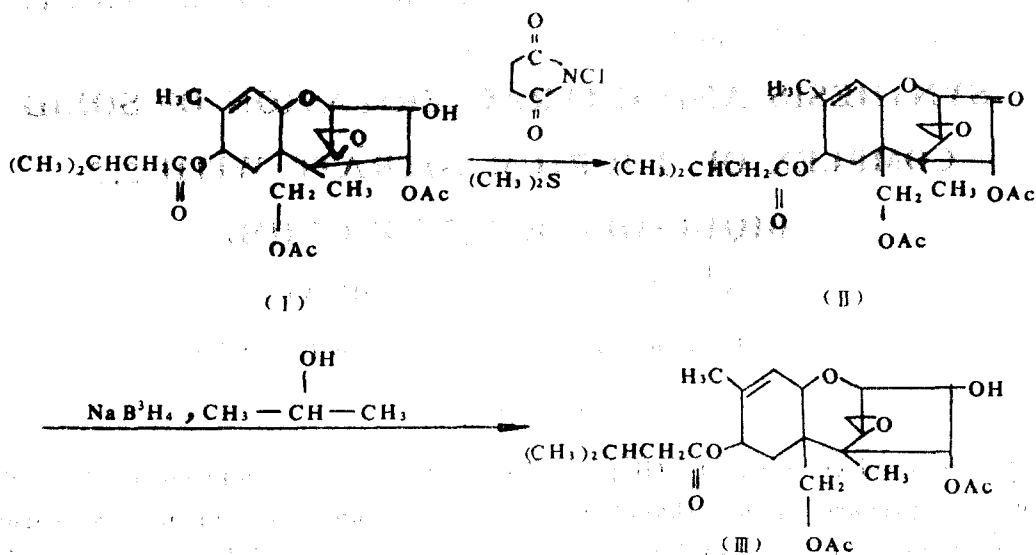
(军事医学科学院药理毒理研究所, 北京)

(中国原子能科学研究院, 北京)

关键词 [$3\text{-}^3\text{H}$]-4 β , 15-二乙酰氧基-8 α -(3-甲基丁酰氧基)-3 α -羟基-12, 13-环氧单端孢霉-9-烯, 氟标记。

4 β , 15-二乙酰氧基-8 α -(3-甲基丁酰氧基)-3 α -羟基-12, 13-环氧单端孢霉-9-烯(简称T-2毒素, 分子式见反应式中I)属于一种真菌毒素, 人畜中毒后可引起呕吐、大量出血、皮肤奇痒、痉挛、抽搐等各种症状, 严重者可致死亡。为了建立放射免疫测定法和进行皮肤毒理学的研究, 制备了[^3H]-T-2毒素。

Wallace^[1], Fontelo^[2]等于1977, 1983年合成了[^3H]-T-2毒素, 比活度为29.2GBq/mmol和499.5GBq/mmol。我们参照文献[1]的合成路线用自制的氯化琥珀酰亚胺^[3]和二甲基硫醚^[4]在-25 $^{\circ}\text{C}$ 下将T-2毒素先氧化成羰基化合物(见反应式中II), 然后用[^3H]-硼氢化钠还原, 合成[^3H]-T-2毒素(见反应式中III), 其比活度为629GBq/mmol, 放化纯度>98%。合成的反应式如下:



[^3H]-硼氢化钠是按文献[5]所报道的方法制得。天然的T-2毒素为 α 型, 通过硼氢化钠还原, 制得为 α 和 β 型的混合物, 它们性质相似, 不易分离。我们经多次探索, 选用GF₂₅₄硅胶高效板, 氯仿:无水乙醇=25:0.5(V/V)作展开剂进行分离, 成功地分离到纯 α 型T-2毒素。经

1986年11月20日收到。

质谱测定结果与标准品的相同, 气相色谱测定的纯度达到99%, R_f 值与标准品的 R_f 值一致。

实验部分

氯化琥珀酰亚胺和二甲基硫醚均按文献[3,4]方法合成, 熔点和沸点与文献值一致。

1. [^3H]-硼氢化钠的制备

硼氢化钠的氟化反应器示于图1。先将15mg硼氢化钠与适量碎玻璃丝混匀后, 置于自制的镍坩锅中, 再将坩锅放入约80ml的自制反应瓶中, 与氟化系统相连, 抽真空后通入氟气, 氟压为33.7kPa (290mmHg)。反应瓶放在自制电炉上, 周围用石棉纤维塞紧, 再用石棉板和石棉布围盖起来, 控制温度在345—370 $^{\circ}\text{C}$, 连续反应103h后移去热源, 放置备用。

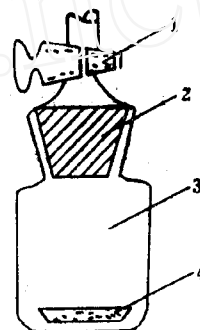


图1 硼氢化钠氟化反应器

- 1—活塞; 2—24号塞子;
3—自制反应瓶; 4—自制镍坩锅

2. 3-羰基-T-2毒素的制备

将9mg氯化琥珀酰亚胺置于装有温度计和塞子的反应瓶中, 加入约2ml的干燥甲苯, 通入干燥的氮气, 用冰水冷却到0 $^{\circ}\text{C}$ 时, 在搅拌下将装有13 μl 二甲基硫醚的微量注射器插入反应瓶上的橡皮塞内, 慢慢地滴入溶液, 立即出现白色固体。移去冰浴, 改用锯末上盖以棉花的丙酮液氮浴, 用液氮调节温度在-28 $^{\circ}\text{C}$ —-25 $^{\circ}\text{C}$, 在搅拌下, 再用注射器将15mg T-2毒素的甲苯溶液通过橡皮塞慢慢地滴入反应瓶中, 保持温度在-28 $^{\circ}\text{C}$ —-23 $^{\circ}\text{C}$ 反应2h后, 滴加10 μl 无水三乙胺的甲苯溶液, 移去冷浴, 搅拌5min后, 在搅拌下用滴管加入3滴氯化氢无水乙醚溶液(出现白色固体)。将溶液转移到另一瓶中, 用适量蒸馏水洗4次, 有机层用无水碳酸钠干燥, 滤去干燥剂, 蒸去溶剂, 真空干燥, 得3-羰基T-2毒素, 备用。

3. [^3H]-T-2毒素的制备

将上述干燥过的3-羰基T-2毒素用约1.5ml的异丙醇在温热下溶解, 加入约7mg ^3H -硼氢化钠, 在38 $^{\circ}\text{C}$ 左右保持40min, 并震荡至气泡消失为止, 加入4.5ml氯仿后, 用0.3mmol/l HCl溶液酸化。以蒸馏水洗两次, 水层用氯仿提取3次, 合并有机相, 用无水碳酸钠干燥, 将干燥过的溶液转移至另一瓶中, 蒸去溶剂, 真空干燥。干燥过的产品用适量氯仿溶解, 用自制的GF₂₅₄硅胶高效薄板, 以氯仿:无水乙醇=25:0.5(V/V)展开分离。用5%无水乙醇的浓硫酸溶液, 将标准品对照部分显色($R_f=0.51$), 然后与标准品对应部分刮下, 氯仿洗脱, 蒸去溶剂, 真空干燥, 得2mg [^3H]-T-2毒素, 比活度为629GBq/mmol, 放化纯度>98% (示于图2)。

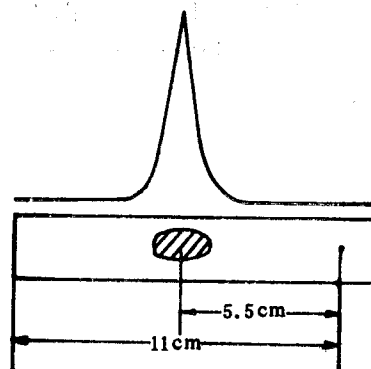


图2 [^3H]-T-2毒素放射性扫描图

参 考 文 献

- [1] Wallace, E.M. et al., *J. Agric. Food Chem.*, 25 (4), 836 (1977).
 [2] Fontelo, P.A. et al., *Appl. Environ. Microbiol.*, 45, 640 (1983).
 [3] Correia, Fr. Y., Demande 2237825 (1976).
 [4] 山西真毒, 日本农艺化学会誌, 27, 660 (1953).
 [5] 韩于丽等, 核化学与放射化学, 5 (3), 255 (1983).

SYNTHESIS OF [3-³H]-4 β , 15-DIACETOXY 8 α -(3-METHYLBUTYRYLOXY)-3 α -HYDROXY-12, 13-EPOXYTRICHOHEC-9-ENE

WU QIANHU LI DEYOU GONG XIONGQI

(*Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing*)

LI ZHIMIN

(*Institute of Atomic Energy, P.O. Box 275, Beijing*)

ABSTRACT

[3-³H]-4 β , 15-diacetoxy, 8 α -(3-methylbutyryloxy)-3 α -hydroxy-12, 13-epoxy trichothec-9-ene is synthesized by oxidizing the C-3-hydroxy to ketone. It is reduced with NaB³H₄ to a mixture of epimers which are separable by high thin-layer chromatography. The specific activity is 629 GBq/mmol and radiochemical purity is over 98%. Specific activity of this tritium labeled T-2-toxin is higher than that by Wallace.

Key words [3-³H]-4 β , 15-diacetoxy, 8 α -(3-methylbutyryloxy)-3 α -hydroxy-12, 13-epoxytrichothec-9-ene, Tritium labeled T-2-toxin, Trichothecene compounds.