

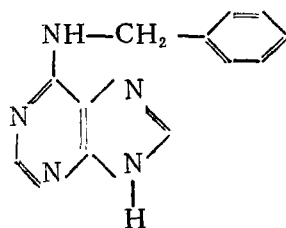
細胞激动素类化合物的合成及其应用

王植材 张景育 叶虹 吳錫深*
(化学系)

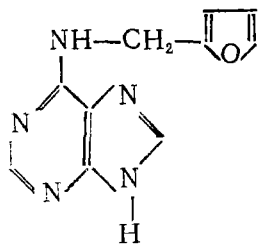
細胞激动素或細胞分裂素，是一类能刺激細胞分裂的活性物质，它不仅为幼胚的生长和发育不可缺少，而且对某些植物的单性生殖、增加结实、刺激果实与谷粒的长大、防止衰老等，都有明显的效果，在花药培养单倍体育种技术方面，更有它的特殊应用。

为了适应农业生产和科研上的需要，几年来，我们合成了下列三个細胞激动素类化合物提供给有关单位试验应用。

(1) 6-苄氨基嘌呤 (6-Benzylaminopurine) 简称6-BA，结构式：



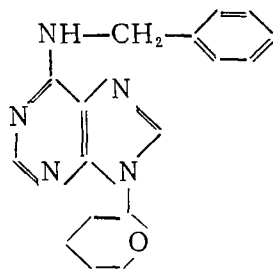
(2) 6-糠氨基嘌呤 (6-Furfurylaminopurine) 也称激动素 (kinetin) 结构式：



*張景育、叶虹、吳錫深为化学系76届毕业生；

許台庄、高建亚同志参加了6-BA的合成工作；生物学系付家瑞同志及花培小组对試驗应用及推广給予大力协助，并参加部分工作。

(3) 6-苄氨基9-(2-四氢吡喃基)9-H-嘌呤[6-Benzyl-amino-9-(2-tetrahydropyranyl)9-H-purine]简称PBA, 结构式:



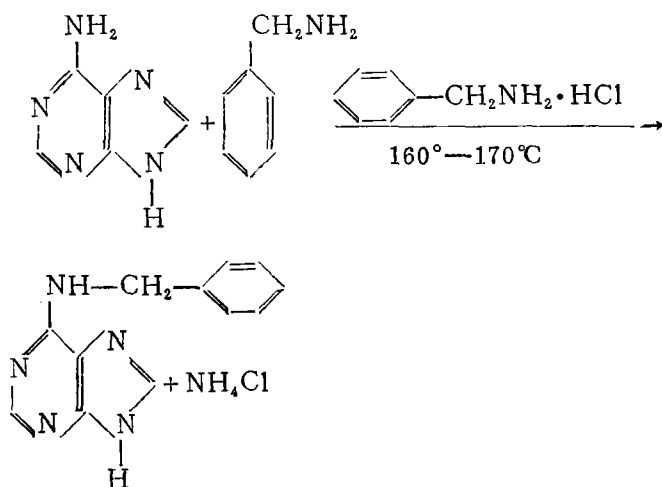
我们曾参照文献中所载的方法及投料量进行合成, 得不到预想的结果或不能满足应用的需要。本文根据本地区特点和原料来源, 选择了切实可行的合成路线, 并对提高反应产率、扩大投料量进行了探索, 特别是6-糠氨基嘌呤的合成, 对反应条件进行了较大的改进, 得到了较为满意的结果。

这三个细胞激动素类化合物, 经使用单位初步鉴定, 活性较高, 6-BA已得到较广泛的推广应用, PBA应用于花药培养单倍体育种方面效果尤其显著。

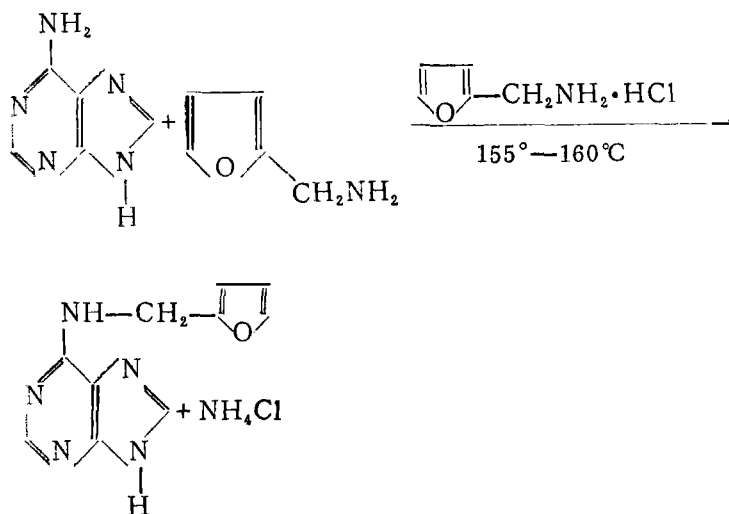
实验部分及讨论

关于6-BA的合成, 文献中有不少报导, 许多是以专利形式发表的。以腺嘌呤为原料有胺交换法⁽¹⁻³⁾、经leuckart反应⁽⁴⁾以及先酰基化后还原的方法⁽⁵⁻¹⁰⁾, 还有以6-氯嘌呤、尿酸、6-巯基嘌呤为原料的合成方法⁽¹¹⁻¹⁸⁾。

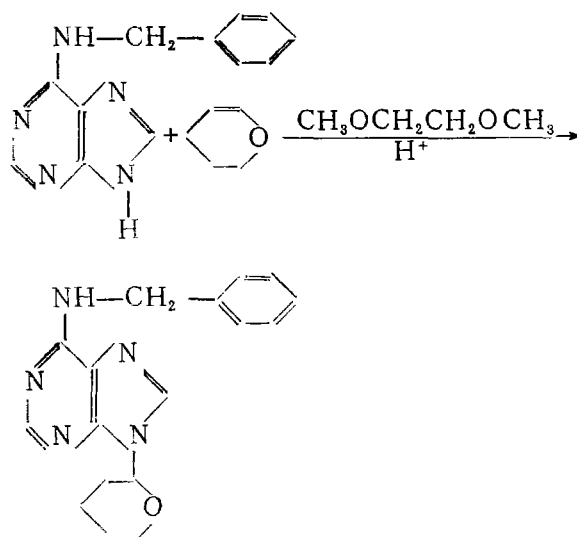
以腺嘌呤为原料的胺交换法, 反应简单, 操作容易, 结合本省特点, 应是比较理想的路线, 我们采用了这一路线进行合成:



近年来,考虑到苯胺来源,本文通过苯氯与环六次甲基四胺反应制备^[17,18]。6-糠氨基嘌呤也采用相似的方法合成:



PBA 的合成采用如下方法^[19]:



1、合成6—BA的原料准备

腺嘌呤若以磷酸盐形式存在,必须用碱中和(PH=7)转化为腺嘌呤。

苯胺盐酸盐的制备:新蒸苯胺32.2克在搅拌下滴加30.5毫升浓盐酸,即生成白色结晶,抽滤,用无水乙醚洗涤,烘干,产量38—42克。

2、6-苄氨基嘌呤的合成

在一园底烧瓶中放置25克腺嘌呤、25克苄胺盐酸盐及50克新蒸苄胺，接上冷凝管及氯化钙干燥管，于160°—170℃的油浴上加热10—14小时。反应结束时，经纸上层析，用Whatman I滤纸，用丁醇：冰醋酸：水=4：1：1三元体系为展开剂，经紫外光（260m μ ）检查，只有 $R_f = 0.88$ —0.90的斑点，原料 $R_f = 0.45$ 斑点基本消失。

反应完毕后，加无水乙醇抽提，抽提液经活性炭脱色，冷却结晶，即得6-BA粗品，经重结晶后得纯品，熔点：229—231℃，产率在35—40%之间，最高达44.9%，达到和超过原文献水平（文献产率为35.7%），红外光谱图见图1。

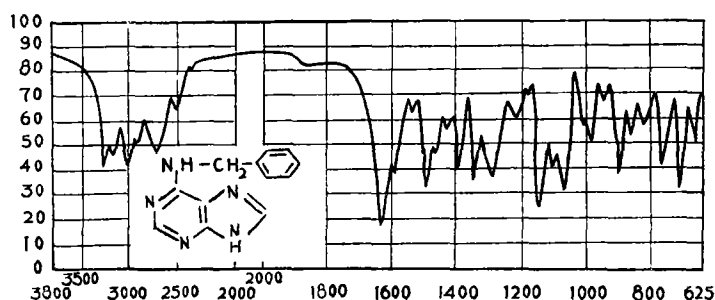


图1 6-苄氨基嘌呤红外光谱图

实验表明，腺嘌呤的投料量由2.5克扩大到25克（10倍），产率并没有降低。

3、激动素的合成

实验步骤与投料比开始时按合成6-BA的方法进行，但得不到满意的结果。反应产物经热抽提后，抽提液颜色极深，多次活性炭脱色，效果仍不明显，经多次重结晶后，虽可得到纯品，但产率极低，经过摸索，作了如下改进：

- 1) 反应温度略为降低，油浴温度控制在155—160℃；
- 2) 增加糠胺加入量（30%），这样反应物易处理，且产率高；
- 3) 粗产物先用研钵磨碎，然后用95%乙醇冷浸洗，抽滤后，深黑色浸洗液弃去，然后用热乙醇抽提，经以上这些改进，可使产率明显提高，由4%增加至40%。

除油浴温度略为降低、糠胺加入量增大以及后处理有所改进外，实验方法与合成6-BA基本相同，产物熔点269—271℃，作纸上层析，仅显 $R_f = 0.89$ —0.92斑点，红外光谱图见图2。

4、6-苄氨基9-(2-四氢吡喃基)9-H嘌呤(PBA)的合成。

在园底烧瓶中，放置4.5克6-BA，5克2,3-二氢吡喃和0.36克的对一甲苯磺

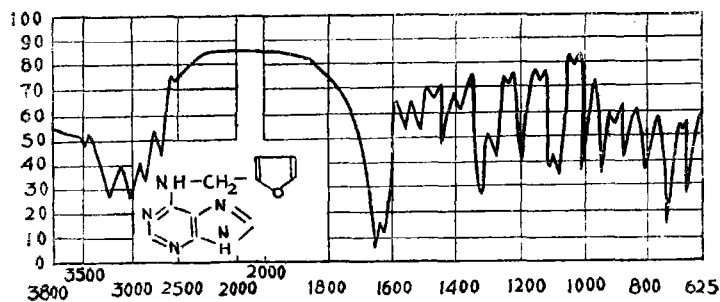


图 2 6-氨基嘌呤(激动素)红外光谱图

酸, 67.5毫升干燥的乙二醇二甲醚, 摇荡后, 安好回流装置, 控制油浴温度为 90°C — 95°C , 回流7.5—9小时。

反应停止后, 在减压下, 于 40°C 从澄清液中蒸出溶剂。剩下的油状物用苯溶解, 并用稀的NaOH溶液和水洗涤, 经无水 MgSO_4 干燥, 蒸出苯, 剩下一种黄色油状物, 用5:1的石油醚—苯的混合溶剂重结晶, 则得6-苄氨基9-(2-四氢吡喃基)9-H嘌呤(PBA), 产量3.5—4.0克, 熔点 108 — 109°C 。

我们认为, 在用石油醚—苯的混合溶剂重结晶前, 也可以不必蒸出苯, 而直接加进石油醚, 这样处理, 产率也不低于前者, 只不过石油醚加入量略为多些。

红外光谱图见图3。

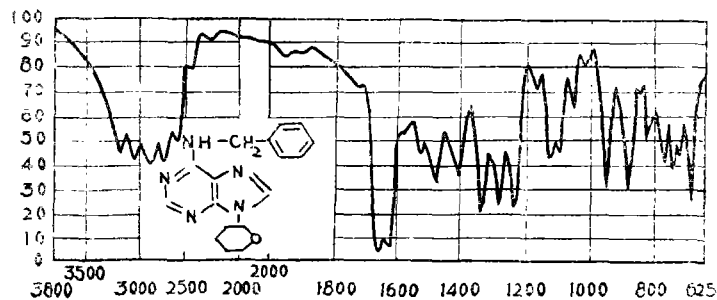


图 3 6-苄氨基9-(2-四氢吡喃基)嘌呤红外光谱图

产品的应用效果

几年来, 国内有168个单位使用我们合成的6-BA、激动素、PBA于水稻、小麦等花药培养单倍体育种, 一些粮食作物、经济作物及果树的增产以及蔬菜的保鲜上, 取得了良好的效果。

据省植物所、省农科院、中大生物学系等单位的小结, 使用我们的药物于水稻、

小麦的花药培养单倍体育种上,效果良好。我校生物学系遗传组认为,我们合成的激动素的绿苗分化率比进口激动素*高;PBA的绿苗分化率也比进口激动素高。肇庆地区农科所试验表明,PBA在花药培养单倍体育种的成功率为进口激动素的1.4倍(参看表一、二、三、四)。

在蔬菜保鲜方面,经广东省新会县外贸公司等单位初步试验,使用20ppm. 6-BA浸渍菜心,可保鲜2—3天,丝瓜保鲜5—6天。

在水稻增产方面,据广州市农科所1976年晚造试验表明,使用6-BA在20ppm. 浓度下,于水稻出穗期喷洒,可促进水稻成熟,增产5.4—13.3%,千粒重增加7%。在广东省恩平县农科所喷洒小麦,在始穗期喷洒30ppm.的6-BA,增产6.1%。

PBA能促进果实的生长和防止植物腐败,在高等植物中,发现它比6-BA活性更大,浸渍葡萄花球,还可产生雌雄两性的花以代替平常的雄花,并可正常的座果。目前除应用于花药培养单倍体育种外,还可望在保鲜等应用上有所突破。

表一 水稻愈伤组织分化成苗试验结果

(广东省植物研究所)1977,4

試驗材料	項 目	愈伤組織 转移数	綠苗数	占%	白苗数	占%	
窄叶青 × IR 661	对 照	43	8	19	5	12	
	中 大 6-BA	1mg/l	45	13	29	5	11
		2mg/l	42	11	26	5	11
		3mg/l	52	14	27	9	17
	上海6-BA	2mg/l	51	16	31	4	8
	进口激动素	2mg/l	44	11	25	12	27

*Kinetin, Koch-Light Laboratories Ltd., England.

表二 水稻愈伤组织分化成苗试验结果

(中山大学生物学系) 1977.3

激 动 素 类 型	接种愈伤 组 织 数	绿 苗		白 苗		愈伤组织老化		绿 苗 生 长 情 况
		管数	占%	管数	占%	管数	占%	
中大6—BA	36	12	33.3	8	22.2	16	44.5	生 长 正 常
中大激动素	12	5	41.7	2	16.6	5	41.7	苗生长良好, 根系发达, 颜色洁白
中大 PBA	10	2	20.0	1	10.0	7	70.0	
进口激动素	42	8	19.0	15	35.7	19	45.3	生 长 正 常

本试验组合为2150×IR24等

表三 水稻花粉培养效果试验结果

(肇庆地区农科所) 1977.4

处 理	接种 管数	接种 花药数	出现愈伤组织 起止天数	出现愈伤 组织数	诱导率	出绿 苗数	出白 苗数
3mg/l I(上海激动素)	16管	502	40—95天	15块	3%	1	4
2mg/l II(中大6—BA)	26	829	40—95天	25块	3%	1	1
3mg/l III(中大6—BA)	27	847	28—95天	50块	5.8%	5	1
4mg/l IV(中大6—BA)	8	269	40—95天	9块	3.3%	0	0

注: 本试验主要做第一阶段(诱导培养), 第二阶段(分化培养)
尚未继续进行调查小结。

表四 水稻花药培养单倍体育种的成功率比较

(肇庆地区农科所) 1977, 11

激动素类型	进口激动素	中大 PBA	中大激动素	中大6—BA
成 功 率	0.0023%	0.0032%	0.0024%	0.0014%

注: 此次成功率(即诱导率×转移率×绿苗率)的绝对值偏低些,
可能与实验某些环节失调有关。

参 考 文 献

- [1] C. W. whitehead and J. J. Traverso, J. A. C. S. **82**, 3971—4(1960).
- [2] O. Katsuhiko et al., Japan **68**, 06, 954(1968);
C. A **70**, p20086 f (1969).
- [3] S. Okumura, Japan **68**, 07, 995(1968);
C. A **69**, 87019 j (1968).
- [4] Barbara Roth, Brit. **1**, 013, 520.
- [5] M. M. Beizar et al., J. O. C. **21**, 1276—7(1956).
- [6] M. W. Bullock et al., J. O. C. **22**, 568—9(1957).
- [7] H. Lettre and Hubert Ballneg, Chem. Ber. **91**, 345—8(1958); C. A. **52**,
18514 c (1958).
- [8] S. Okumura, Japan 8526(1956); C. A. **54**, p 6769 f (1960).
- [9] M. M. Beizer, U. S. 2,956,998(1960); C. A. **55**, p7446c (1961).
- [10] J. Van Overbeek, U. S. 3,013,885(1960);
C. A. **56**, p 14306 c (1962).
- [11] J. W. Daly and B. E. Christensen, J. O. C. **21**, 177—9(1956).
- [12] M. W. Bullock et al., J. A. C. S. **78**, 3693—6(1956).
- [13] S. Okumura, Japan 483(60); C. A. **54** p19729d (1960).
- [14] H. Nishimada and S. Okumara, Japan **10**, 115(1963); C. A. **65** p13738c
(1966).
- [15] C. G. Skinner and Wn. Shire, J. A. C. S. **77**, 6692—3(1955).
- [16] S. Okumura et al., Bull. Chem. Soc. Japan, **30**, 194—5(1957).
- [17] J. A. C. S. **61**, 3585(1939).
- [18] 医药工业, 1971年第7期, 第10页。
- [19] C. A. **62**, p16273f (1965).

SYNTHESIS OF CYTOKININS AND SOME OF THEIR APPLICATIONS

ABSTRACT

Since 1975, we have successfully synthesized three cytokinins, i. e., 6-benzylaminopurine, 6-furfurylaminopurine and 6-benzylamino-9-(2-tetrahydropyranyl)-9-H-purine. We have made some modifications in the known methods of synthesis, in order to acquire much higher yield as well as higher purity of the products. For instance, in the preparation of 6-furfurylaminopurine, the oil bath temperature was lowered to 155—160°C., and the quantity of furfuryl amine added was increased by 30%. Modes in the working up of the reaction product were different from that known in the literature, so that the yield of the product was raised from 4% to 40% (yield reported in the literature 39.8%).

Our products were tested by many research institutes, such as the Institute of Botany in Guangdong the Provincial Research Institute of Agricultural Science in Guangdong the Department of Biology in the Sun Yatsen University, as well as many agricultural experimental stations of some remote provinces in our country in the anther culture haploid breeding of rice, wheat, in raising the harvest of cereal crops, economic plants and fruit trees and in prolonging the shelf life of leafy vegetables. Their effects were proved to be quite good. Especially PBA, applied to the monoploid breeding, has shown the most remarkable effects.