

N-甲基吩嗪甲基硫酸盐 (PMS) 的制备

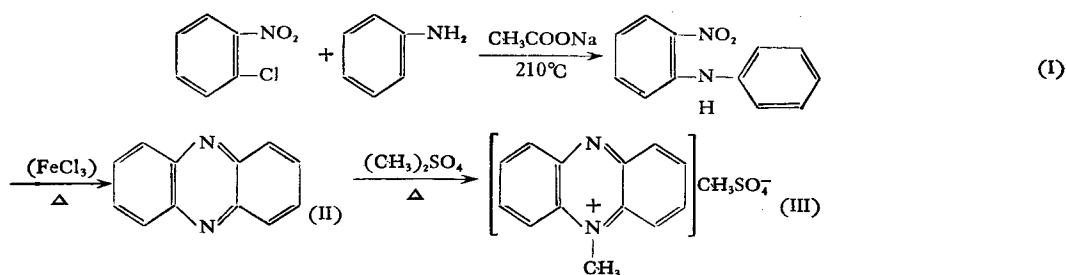
戎积圻 崔浩吉

(中国科学院上海生化研究所东风生化试剂厂)

N-甲基吩嗪甲基硫酸盐 (N-Methylphenazonium methosulfate) 或称吩嗪二甲酯硫酸盐 (phenazine methosulfate, 简称 PMS), 在某些酶反应中常被用作电子受体和传递体。在胆碱脱氢酶、甾类化合物环 $\Delta\Delta$ -脱氢酶和琥珀酸脱

氢酶等的活力测定^[1]以及光合磷酸化法制备 ATP^[2], 临床检验血清乳酸脱氢酶同工酶^[3,4]等方面均需用到 PMS。现将合成方法报道如下:

一、合成路线



二、制备方法

1. 邻-硝基二苯胺 790 克(5 克分子) 邻-硝基氯代苯、820 克(10 克分子)无水醋酸钠和 1825 毫升(20 克分子)苯胺, 加热迴流 52 小时。冷后, 加入沸水洗涤。黑色油状物用 2N 盐酸调节到 pH1.5, 即转变成颗粒状物。过滤收集黑色具闪光结晶, 用水多次洗涤到近中性。再用 90% 乙醇洗涤 3—4 次, 干燥后得红棕色具闪光的粗结晶约 940 克。产率 87%(文献[5] 80%)。熔点: 72—74℃。不需提纯, 可用于下一步制备。

2. 吩嗪 220 克(1.03 克分子)邻-硝基二苯胺 4.4 克和无水氯化铁充分混匀, 缓缓加热到 280—300℃, 此时反应会进行得比较猛烈, 须停止加热, 同时有 CO_2 、 H_2O 、部分邻-硝基二苯胺和少量产物自空气冷凝管中馏出。反应混合物温度控制在 330℃ 以内。当反应混合物温度下降到 280℃ 时, 在此温度继续保持 20—30 分钟。然后移去热源, 同时适当减压, 使反应混合物在凝固过程中变得较为疏松。把已冷到室溫的黑色固体挖成碎块, 加入 1000 毫升 5.5N 盐

酸, 在 80℃ 水浴中加热搅拌 30 分钟, 过滤收集盐酸抽提液。黑色固体研细后再用 1000 毫升 5.5N 盐酸热抽提一次。合并两次抽提液, 在冰冷条件下, 用氨水调节到 pH 6—7, 有沉淀析出。过滤收集沉淀, 用水彻底洗涤几次。按每克湿重加 10 毫升无水乙醇, 加热使之全溶, 用活性炭脱色过滤, 0℃ 过夜。过滤收集黄色针状结晶, 干燥后得吩嗪 68 克。母液浓缩后尚可回收部分产品, 但须经两次重结晶, 可得 4 克。合计产率为 37.5%。熔点: 171—173℃(文献[5] 产率 40%, 熔点 171℃)。

3. 甲基吩嗪甲基硫酸盐 (PMS)^[6] 操作须在避光、防潮条件下快速进行。自开始反应到重结晶结束约 90 分钟全部完成。

540 毫升硝基苯, 加热到沸腾以除去微量水份。当冷到 125℃ 时, 快速加入 30 克(0.167 克分子)吩嗪, 使全溶后, 当溶液温度冷到近 100℃ 时, 一次迅速加入 135 毫升(1.43 克分子)新蒸硫酸二甲酯。加热使反应混合物温度上升到 100℃, 并保持此温度摇动 5—7 分钟, 反应即告完成。置盐冰浴中快速冷到 0℃, 有大量

结晶析出,立即过滤收集结晶,用 360 毫升无水乙醚分多次洗涤结晶。母液与乙醚洗涤液合并后,冷到 0℃,过滤收集再次析出的第二批结晶。

第一批结晶快速用 95% 热乙醇(2.5 毫升/克)重结晶,冷到 0℃ 后,立即过滤收集结晶,用少量无水乙醇彻底洗涤 3—4 次,干燥到恒重。得金黄色颗粒状具闪光的 PMS 结晶约 27 克。

第二批结晶按上述方法经两次重结晶后可得 4 克合格的 PMS。合计共得 31 克。产率 61%。

三、产品质量鉴定

外观 金黄色或棕色颗粒状结晶。

溶解度 1% 水溶液为黄色或橙色澄清液。pH 为 4.0—4.5。

纸层析 新华 1 号滤纸,上行;溶剂系统为正丁醇:醋酸:乙醇:水(4:1:1:2),在暗处展层。Rf 值为 0.6。

乳酸脱氢酶(LDH)同工酶测定^[7] 用聚丙烯酰胺凝胶电泳分离大白鼠心脏匀浆中的乳酸脱氢酶同工酶,然后用我厂生产的 PMS、NAD、Nitro-BT 进行显色,可清晰地看到各个同工酶的区带(图 1)。



图 1 LDH 同工酶图谱*

1. LDH—1 2. LDH—2
3. LDH—3 4. LDH—4
5. LDH—5

本品必须干燥避光保存,否则易变质失效,若保存妥当,二、三年内质量仍可保证。

参 考 文 献

- [1] Colowick, S. D. et al.: *Methods in Enzymology*, V, 562, 533, 598, 1962.
- [2] 河北省轻工业研究所:《轻工业科技动态》,1975年,第3期,第20页。
- [3] 上海市医学化验所:《临床生化检验》(上册),1979年,第312页。
- [4] 王金寿等:《生物化学与生物物理进展》,1981年,第一期,第46页。
- [5] Дверняцкий, В. П., *Украинский химический Журнал*, 24, 549, 1958; *CA* 53, 17140b, 1959.
- [6] Singer, T. P. et al.: *Methods of Biochem. Anal.*, 4, 307, 1957.
- [7] Gerald, R. Cooper: *Standard Methods of Clinical Chemistry*, 7, 49, 1972.

[本文于 1981 年 7 月 20 日收到]

* 由生化所五室张永莲、黄均蓉等同志帮助测定谨此致谢。

科技消息

脑内神经细胞可能再生

最近在美国召开的神经生物学年会上,加拿大蒙特利尔的神经生物学家报道了哺乳动物中枢神经系统受损伤时可以再生,过去一直认为中枢的神经细胞一旦建立了联系,就像冻住了一样,受损伤是无法修复的。但是在他们的工作中,他们认为这些细胞有生长的势能,甚至在较长距离。他们看到联系中断后又出

现的局面,至少在某些特殊情况下是这样,他们进一步把大鼠胚胎神经细胞移植到受损的成年鼠中,看到移植的神经细胞在若干方面出现了功能,几乎恢复了90%的失去了的感觉和学习机能。

Chem. eng. news, Oct. 26, 1981.

氯化钙使苹果保鲜

植物病理学家的工作表明在加压下使用氯化钙可使苹果保鲜。80% 氯化钙溶液在 15-psi 压力下苹果受真菌的侵蚀大大降低。保鲜程度可提高 9 倍,腐烂

可降低 44%。什么原因还不明了,可能钙能增强细胞膜,抑制真菌生长。

摘自 Chem. eng. news. Nov. 9, 1981.