

N^{咪唑}-2, 4-二硝基苯-L-组氨酸的简便制备法

王国俊 戎积圻

(中国科学院上海生物化学研究所东风生化试剂厂)

N^{咪唑}-2, 4-二硝基苯-L-组氨酸 (N^{im}-DNP-His) 是 DNP 法测定蛋白质结构^[1]时的对照样品之一; 也有用做组氨酸多肽合成中咪唑基保护中间体^[2]。

制备 N^{im}-DNP-His 的早期报道均极简略^[3,4], 后来有人用 N^α-cbz-His^[5] 及 N^α-Boc-His^[6] 的方法。但均不适于大量制备之用。

我们的经验证明 Sanger 法中生成的 NaF 和 NaCl 很难与产物分离, 这或许是早期报道极为简略的原因。我们在试验中发现: DNP-乙酰组氨酸很难溶于饱和 NaCl, 但可溶于浓盐酸。因此借浓盐酸法和无水乙醇法等步骤, 可以简便地制得合格的 N^{im}-DNP-L-His 产品。现介绍如下:

4.3 克 N^α-乙酰-L-组氨酸^[7]和 8.4 克碳酸氢钠溶于 80 毫升水中, 加入 160 毫升含 7.4 克二硝基苯 (FDNB) 乙醇溶液, 室温振摇五个小时, 反应即告完成。减压蒸去乙醇, 水溶液用乙醚抽提除去过量 FDNB, 用盐酸酸化至 pH 2—3, 过滤除去沉淀, 浓缩到 20 毫升, 得 6.3 克 N^{im}-DNP-乙酰组氨酸, 取 3 克溶于 14 毫升浓盐酸, 过滤除去无机盐, 用等体积水稀释, 回流 2.5 小时, 以脱去乙酰基。经脱色后,

减压蒸发到干, 残留物溶于 15 毫升无水乙醇中, 滤除无机盐, 蒸发到干, 再溶于 8 毫升热冰醋酸, 冷后用三乙胺调至 pH3, 加乙醚析出粗制 N^{im}-DNP-His, 过滤收集, 得 2.2 克。用 7 毫升冰醋酸重结晶后得 1.7 克 N^{im}-DNP-L-His·1.7HCl (产率 47%)。产物经纸层析、光谱吸收^[3]和元素分析鉴定合格。

元素 (C、H、N) 分析由中国科学院上海药物研究所有机微量分析室分析, 氯离子由本厂陆之贤同志分析。谨此致谢。

参 考 文 献

- [1] 潘家秀等:《蛋白质化学研究技术》, 第一版, 科学出版社, 北京, p. 95, 1962年。
- [2] Fridkin, M. et al.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 17, 517, 1977.
- [3] Margoliash, E.: *Nature*, 175, 294 1955.
- [4] Gerard, B. et al.: *Chromatog. Review*, Vol. 2, P63, P92, 1960.
- [5] Siepmann, E. and Zahn, H.: *Biochim Biophys. Acta*, 82, 412, 1964.
- [6] Chillemi, F. and Merrifield, R. B.: *Biochemistry*, 8, 4344, 1969.
- [7] Marshall, R. et al.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 78, 4636-1956.

[本文于 1986 年 8 月 12 日收到]

(上接第 75 页)

猪肺炎支原体膜上一种抗原为疏水蛋白, 并与脂膜紧密结合, 这种膜蛋白可能在猪肺炎支原体细胞感染寄主时起重要作用。此外对猪肺炎支原体细胞基因结构与功能的研究也开始进行了探讨。

这次会议总的印象是, 支原体基因结构与功能、支原体膜脂与膜蛋白相互作用仍为当前研究的前沿课

题。单克隆抗体技术已得到广泛应用。支原体膜蛋白的分离鉴定、膜上致病性抗原的探讨, 将为今后寻找分子疫苗提供重要途径。我国在上述研究领域的工作仍十分薄弱, 与国外实验室比较存在较大差距, 今后应引起足够重视, 大力加强这方面的工作。

[中国科学院生物物理研究所 黄芬]