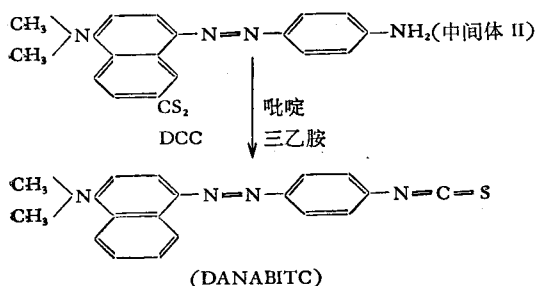


呈色 Edman 试剂: 4-N,N-二甲氨基萘偶氮苯-4'-异硫氰酸酯合成的新方法

俞鹤年 蔡菊娥

(中国科学院上海生物化学研究所)

4-N, N-二甲氨基萘偶氮苯-4'-异硫氰酸酯 (DANABITC) 和 4-N, N-二甲氨基苯偶氮苯-4'-异硫氰酸酯 (DABITC), 为两种可以互相补充的呈色 Edman 试剂^[1]。已经用于蛋白质的一级结构分析^[1-4], 其氨基酸衍生物在聚酰胺膜上展层经盐酸蒸汽熏后分别呈紫色和红色, 灵敏度为 1×10^{-12} 克分子。文献报道用硫代光气合成这两种试剂 (未报告产率)^[5]。由于硫代光气毒性大, 我们曾根据二环己基羰二亚胺 (DCC) 可以将二硫代氨基甲酸类进行分子内裂解产生异硫氰酸酯的反应^[5], 合成了 DABITC^[6]。本文报道一种合成 DANABITC 的新方法。



实验材料

对-氨基乙酰苯胺 (上海试剂厂), 二环己基羰二亚胺 (上海佘山化工厂), N, N-二甲氨基萘胺 (B. D. H), 薄板层析硅胶 G (浙江黄岩硅胶厂)。聚酰胺薄膜 (黄岩实验化工厂)。中间体 II: 4-N, N-二甲氨基-4'-氨基萘偶氮苯按 Chang 和 Creaser^[1] 方法制备, 进一步用正己烷洗涤纯化, 为油状物。

实验方法

2500 毫克 (8.6 毫克分子) 中间体 II 溶于 4 毫升无水吡啶 (经氢氧化钾回流和重蒸处理) 为溶液 I。1250 毫克 DCC (6.1 毫克分子) 溶于 10 毫升 CS_2 (165 毫克分子) 再加 0.5 毫升三乙胺为溶液 II。在 60 分钟内将溶液 I 逐滴加至溶液 II 中, (反应液置于冰盐浴, 温度保持在 $-4^\circ C$ 以下) 加完后, 反应液在冰浴内继续放置 4 小时, 室温再放置 40 小时。减压抽干, 得粉状物。在干燥硅胶柱 (5×40 厘米, 约 300 克硅胶) 上纯化, 用苯洗脱。在洗脱第一个深红色带前 100 毫升左右的洗脱液中 (图 1 中 A), 含大量杂质 (图 2 中 2) 必须弃去, 否则将影响 DANABITC 的结晶。然后收集洗脱的第一个深红色带, 约 100 毫升 (图 1 中 B)。慢慢将苯抽去得深红色

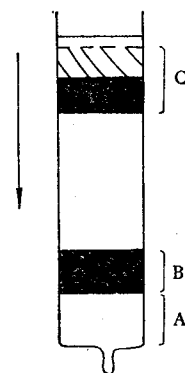


图 1 DANABITC 硅胶柱层析图

A. 无色洗脱液, 浓缩后呈胶状物。B. 深红色洗脱峰 (DANABITC)。C. 中间体 II

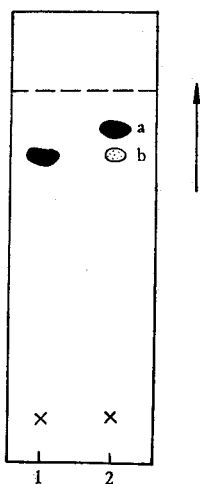


图 2 DANABITC 的硅胶薄板层析图

1. 图 1 中 B(DANABITC); 2. 图 1 中 A₁ (a-杂质; b-DANABITC)。层析系统: 苯作溶剂, 展层 30 分钟。层析后经淀粉-碘化钾-氯气法显色^[7]。

结晶 605 毫克(产率为 24%)。经硅胶薄板层析鉴定为纯品(图 2 中 1)。再以热丙酮重结晶得深红色针状结晶(回收率为 50%)熔点: 125—126℃。元素分析: 分子式 C₁₉H₁₆N₄S, 计算值: N(16.87), S(9.64); 实验值: N(16.85), S(9.50)。

中间体 I、II 及产品(DANABITC)的聚酰胺膜层析 R_f 值列表如下:

样品名称	层析 R _f 值		蒸盐酸后层析斑点颜色
	系统 I	系统 II	
中间体 I	0.48	0.67	灰 绿
中间体 II	0.80	0.75	洋 红
DANABITC	0.05	0.97	青莲蓝

系统 I: 冰乙酸:水=1:2 (V/V)。

系统 II: 甲苯:正己烷:冰乙酸=2:1:1 (V/V)。上行, 室温, (10—15 分钟)。

参照 Chang 等^[1,2]方法用此试剂标记精氨酸, 丙氨酸, 脯氨酸, 甲硫氨酸; 并测定胰岛素 B 链 N 端(苯丙氨酸)及胰岛素 N 端(苯丙氨酸和甘氨酸), 说明试剂标记效果良好。

本工作得到潘家秀和刘望夷同志指导, 诸宝珍同志承担元素分析工作, 特此致谢。

参 考 文 献

- [1] Chang, J.Y. et al.: *J. Chromatogr.*, **132**, 303, 1977; *Biochem. J.*, **153**, 607, 1976.
- [2] Chang, J.Y. et al.: *FEBS Lett.*, **93**, 205, 1978.
- [3] Pon, C.L., et al.: *FEBS Lett.*, **101**, 157, 1979.
- [4] Wittmann-Liebold et al.: *FEBS Lett.*, **108**, 69, 1979; **108**, 75, 1979.
- [5] Jochims, J. C. et al.: *Angew. Chem. Internat. Ed.*, **6**, 174, 1967.
- [6] 刘望夷、丁敏芳、徐梅倩, 待发表。
- [7] 潘家秀等编:《蛋白质化学技术》, 科学出版社, 1962 年, 第 20 页。

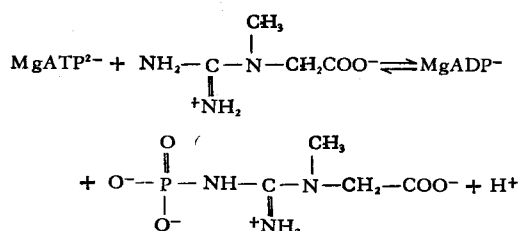
[本文于 1980 年 11 月 27 日收到]

pH-比色法测定肌酸激酶活力

姚启智 邹承鲁

(中国科学院生物物理研究所)

肌酸激酶是参与细胞能量代谢、与肌肉收缩及 ATP 的再生有直接关系的重要激酶。它催化肌酸与 ATP 间的转磷酸化反应:



1954 年 Kuby 等人^[1]首次自兔肝中纯化了此酶, 并获得结晶。此后, 对该酶的基本特性, 催化机制、亚基结构等方面开展了大量的工作^[2-4]。自从近年来发现其同功酶的变化, 是心肌梗塞、肌肉失调等疾病临床诊断的重要指标以来, 更引起了人们的广泛重视。无论是肌酸激酶结构功能的研究, 还是作为临床诊断, 都需要测定它的活力, 而目前一般文献报道的测活方法, 操作比较复杂, 费时费力, 或是要求特殊的