

水洗的浓缩剂即属于这一类。另外一类，是适用于分子量在 2.6 万以上的蛋白溶液，使用这类浓缩剂时，只有分子量大于 2.6 万的各种物质可排阻于浓缩剂之外，从而达到浓缩目的。丙烯酰胺浓度为 25%，经酒精处理的浓缩剂即属于后一类。

3. 浓缩剂的释放物质问题

不同方法处理的浓缩剂，都可释放出一些吸收紫外光的物质。这种物质可能是丙烯酰胺聚合过程中，没有完全聚合的丙烯酰胺，或是虽已聚合，但仍有极少的丙烯酰胺可溶于溶液中。作为一般临床检查或浓缩来说，这种物质的存在，对结果没有什么影响。此外，用流动水冲洗或酒精处理均还可使释放物质的量减少。

4. 对浓缩剂的评价

目前国内实验室常用的浓缩方法是高渗透析。由于用透析方法进行浓缩时，溶液中盐类的浓度也相应增高，因此在浓缩后还需要进行平衡。用透析法至少需要两天。在透析过程中，样品还要被透析袋粘去很多。如样品量很小时，则根本不能用透析袋来浓缩。如使用其它方法，则需要具备一定的设备条件。而使用浓缩剂时，则不需要任何设备。因为浓缩剂的量与吸水量成正比，所以只要按溶液需要浓缩的量，称取一定量的浓缩剂，放入需要浓缩的溶液中，2 小时取出即可。其次在浓缩过程中，溶液中的盐类随着水份一同进入浓缩剂内，所以

浓缩后，溶液中盐类的浓度不会增高，因此也就不需要再进行平衡。同时浓缩剂吸水饱和后，不再膨胀吸水，所以加入浓缩剂后，可静置过夜或更长时间，不影响浓缩的效果。另外浓缩剂还有选择性，可选用不吸 2.6 万或 7 万以上分子量的蛋白及其它物质的浓缩剂。溶液浓缩前后 pH 及离子强度也没有变化。从我们试用的情况来看，经过浓缩后，溶液中蛋白的活性没有受到破坏。浓缩剂经高压灭菌后，并不影响浓缩剂的性能。因此对于需要进行灭菌浓缩的溶液就很方便。对于需要浓缩的小量样品，如小于 1 毫升至数十毫升的样品最适用，大量样品也可使用。因为浓缩后取出浓缩剂时，浓缩剂表面要粘附一部分溶液，所以仍会丢失少量样品。

我们将美国生产的浓缩剂与本组自制的浓缩剂进行了比较。本组自制浓缩剂在吸水量、释放物质量、吸收蛋白的分子量大小及浓缩剂本身的韧性等方面，均与美国生产的相似，或优于美国生产的浓缩剂。

参 考 文 献

[1] 北京医学院微生物教研组：《免疫学与免疫化学技术》，1976。
[2] 袁静明：《凝胶层析法及其应用》，科学出版社，1975。
[3] Maurer, H. R.: Disc electrophoresis and related techniques of polyacrylamide gel electrophoresis. Second revised and expanded edition. 1971.

[本文于 1978 年 8 月 9 日收到]

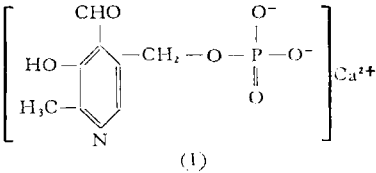
5-磷酸吡哆醛钙盐的合成*

方 丁 张 富 荣

(河北新医大学生化教研组)

5-磷酸吡哆醛钙盐 (Ca-PLP) 的化学名是 2-甲基-3-羟-4-甲酰-5-羟甲基吡啶 磷酸 钙盐 (I)，其结构式如右。

5-磷酸吡哆醛在生物体内是许多氨基酸脱氨酶和脱羧酶的辅酶，也是催化氨基酸转氨基作用的转氨酶的辅酶。近年来，不少作者报告，



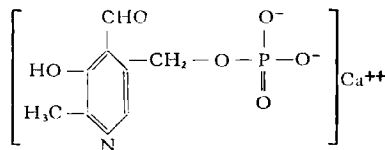
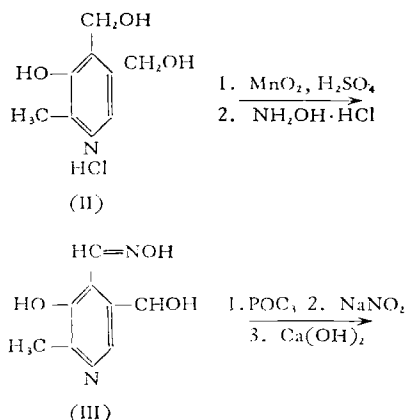
* 刘广志，王淑凤两位同志参加部分实验。

由于缺乏维生素 B₆ 使血清谷氨酸-草酰乙酸转氨酶 (SGOT) 活性下降, 不能反映体内谷草转氨酶实际活性^[1,2], 当测定 SGOT 时, 加入 PLP 可使其活性恢复到原来水平^[3]。因此, 为了科研和临床目的, 精确测定 SGOT 活性时, 必须加入 PLP^[4]。在分离和提纯 SGOT 过程中也必须加入 PLP 作为保护剂^[5]。

在临床上, 对妊娠呕吐、神经炎以及糖尿病患者的末梢神经症状有一定疗效。又因 PLP 作为不饱和脂肪酸代谢途径的辅酶, 所以可能有改善脂溢性皮炎的作用。因而在国外作为药物以爱得乐醛 (Aderol) 商品名来称呼 Ca-PLP^[6]。

据文献介绍, PLP 的合成路线较多, Gun-salus^[7] 等人直接用吡哆醛经三氯氧磷水溶液磷酸化制成钡盐。Ferrel^[8] 等用磷酸-五氢化二磷混合物使吡哆胺磷酸化, 得到粗制的不易分离的 5-磷酸吡哆胺, 再用二氧化锰将后者氧化成 5-磷酸吡哆醛, 最后用氨洗脱得产品。Mrtabiya^[9] 则将吡哆醛肟加至三氯氧磷-水溶液中磷酸化, 然后用亚硝酸再生醛。

我们在科研工作中需要合成 5-磷酸吡哆醛钙盐作为提纯 SGOT 时的保护剂, 故而综合上述几种方法加以改良, 采用国内供应方便的盐酸吡哆辛 (II) 为原料, 先用二氧化锰氧化成吡哆醛, 然后分离, 提纯制成吡哆醛肟 (III) 结晶, 再用三氯氧磷将吡哆醛肟磷酸化, 最后用亚硝酸再生醛, 并制成钙盐。这条合成路线反应步骤简单, 容易操作, 原料和试剂也容易得到, 在一般实验室或小型药厂中都能做到。



合 成 方 法

一、吡哆醛肟的制备

在 250 毫升锥形瓶中放入蒸馏水 150 毫升, 研细的盐酸吡哆辛 10 克, 搅拌至全溶 (溶液的 pH = 4.0)。在较高速度搅拌下, 缓慢地滴加浓硫酸 4.91 克 (比重 1.89), 此时 pH = 2.0。将反应瓶移入 60—70℃ 水浴中, 继续搅拌, 使吡哆辛氧化。每反应 10 分钟取样用 pH 试纸测定 pH, 直到溶液的 pH 为 5 以上, 接近 6.0。取出反应瓶, 过滤, 收集桔红色滤液。向滤液中加入醋酸钠 20.4 克, 摇动至醋酸钠全溶 (溶液 pH = 6.0)。再加入盐酸羟胺 (NH₂OH·HCl, 96%) 5.21 克 (溶液 pH = 5.0), 用力摇动 10 分钟至米黄色沉淀全部析出。将反应瓶在蒸气浴上加热 10 分钟后, 立即移入冰浴, 使反应物冷却至零度左右。过滤收集沉淀, 用冰冷的蒸馏水洗涤沉淀, 至滤液无色为止, 再分别用冰冷的乙醇和乙醚各洗两次后, 放在干燥器中干燥。然后, 将干燥的沉淀溶于 60℃ 酒精中, 全部溶解后, 加活性碳 2.0 克, 摇动脱色。趁热过滤, 收集滤液, 在冰箱中放置过夜, 等结晶全部析出。过滤, 收集的结晶为吡哆醛肟 (熔点: 224—225℃)。

二、吡哆醛肟磷酸化

取三氯氧磷 (POCl₃, 比重 = 1.67) 23.1 毫升, 逐滴加入 4.5 毫升, 在 20℃ 水浴中搅拌 1.5 小时后, 放置过夜。在冰浴中加粉碎的吡哆醛肟 3.0 克于上述溶液中, 成粘稠液体。加乙醚 180 毫升, 出现白色沉淀, 再加 1 N 盐酸 198 毫升, 溶液分为两层。待沉淀完全溶解后, 于水浴 (70℃) 中蒸出乙醚, 冷却。冰浴中缓慢加入亚硝酸钠 14.4 克, 再置 100℃ 水浴中 8 分钟。过滤, 收集滤液, 浓缩。加饱和氢氧化钙 25 毫升, 再加氢氧化钙粉末约 27 克, 最后用饱和氢氧化钙调溶液的 pH 至 8.5。过滤, 收集溶液, 加 2—

3 倍体积酒精, 沉淀析出。冰箱中放置过夜, 收集沉淀, 干燥后得 5-磷酸吡哆醛钙盐。

三、鉴定

(一) 盐酸吡哆辛, $C_8H_{12}NO_3Cl$, 分子量 205.65, 熔点 $205-212^{\circ}C$ 。为无色长方形片状结晶。紫外光谱: $\lambda_{max}^{0.1NHCl} = 290$ 毫微米(图 1), $\epsilon = 8.400$, 加硷向 245 毫微米移动。

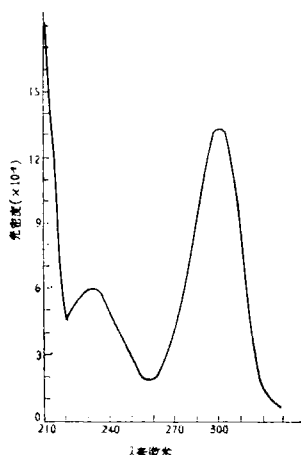


图 1 盐酸吡哆辛溶于 0.1 NHCl 紫外光谱

(二) 吡哆醛肟, $C_8H_{10}N_2O_3$, 分子量 182.096。熔点 $224-226^{\circ}C$ 。结晶呈无色短杆状。紫外光谱: $\lambda_{max}^{0.1NHCl} = 275, 325$ 毫微米(图 2), $\epsilon = 10.400$ (275 毫微米), $\epsilon = 8.200$ (325 毫微米)。

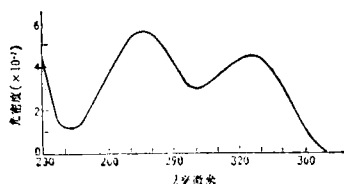


图 2 吡哆醛肟(溶于 0.1 NHCl) 紫外光谱

(三) 5-磷酸吡哆醛钙盐, $C_8H_8NO_6PCa$, 分子量 285.20。为嫩黄色粉末, 微溶于水, 不溶于酒精与乙醚。微溶于稀酸、稀硷中, 紫外光谱: $\lambda_{max}^{0.1NHCl} = 290$ 毫微米(图 3), $\lambda_{max}^{0.1NNaOH} = 243, 308$ 毫微米(图 4)。

四、讨论

(一) 二氧化锰的质量直接影响吡哆辛的氧化。要求二氧化锰产氧率高(约 18%); 颗粒

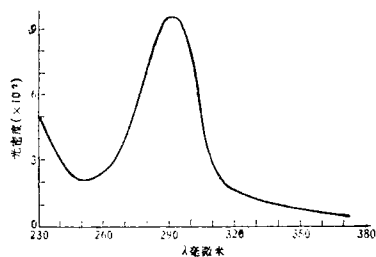


图 3 爱德乐醛(溶于 0.1 NHCl) 紫外光谱

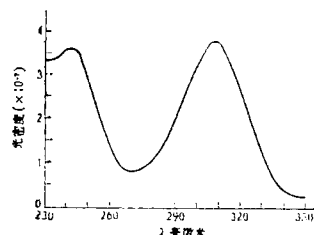


图 4 爱德乐醛(溶于 0.1 NNaOH) 紫外光谱

度细; 酸不溶物不大于 0.06%。

(二) 滴加硫酸要缓慢, 搅拌要充分。反应完全与否应以反应溶液的 pH 达到 5 以上为准。吡哆醛肟的得量高, 产品的质量也较好(表 1)。

表 1

实验批号	二氧化锰质量	反应时间(分)	反应溶液(pH)	吡哆醛肟质量*
第一批	产氧率低于16%	240	2	熔点不合格
第二批	产氧率低于16%	120	3	熔点不合格
第三批	产氧率低于16%	240	4	熔点不合格
第四批	产氧率高于18%	40	5 以上	熔点 $224^{\circ}C$ (得率61%左右)

* 要求制得吡哆醛肟的熔点应在 $224-226^{\circ}C$

(三) 磷酸化反应温度要低, 由于吡哆醛肟和磷酸反应时放热而导致粘稠物的生成, 降低产率。如果降低温度, 吡哆醛肟在三氯氧磷水溶液中直接进行磷酸化还是可能的。试验证明, 只要在零度左右, 将研细的吡哆醛肟逐渐加到三氯氧磷水溶液中, 可以得到 40% 产率的 5-磷酸吡哆醛钙盐。

参 考 文 献

[1] Rosalki, S. B., Bayoumi, R. M.: Clin. Chem.

- Acta*, 59, 357, 1975.
- [2] Krishnaswamy, K.: *Int. J. Vitamin Nutri. Res.*, 41, 240, 1971.
- [3] Hanfelt, A., Tuvemo, T.: *Clin. Chem. Acta*, 41, 287, 1971.
- [4] Horder, M., et al.: *Organisatein des Labortoirs-Biologie prospective*, p. 315—320, 1975.
- [5] Shrawder, E. J., Martinez-Carrion, M.: *J.B.C.* 248, 2140, 1973.

- [6] 大阪府病院药剂师会編集: “医药品要覧”, 794, 昭和49年。
- [7] Gunsalus, I. C., et al.: *J.B.C.*, 161, 743, 1945.
- [8] Ferrel, R. E., et al.: *J. Am. Chem Soc.*, 70, 2101, 1948.
- [9] Mrtabiya, A.: 1959 Japanese patent 2,533, *Chem. Abstr.* 59, 11445, 1963.

[本文于1978年10月9日收到]

超速离心机转子安全运转的某些问题

张 维 明

(中国科学院新疆分院化学所)

超速离心机是生化研究的重要设备之一。如何保证安全运转,是实验人员关心的一个问题。因超速离心机转数高,产生的离心力大,往往由于使用不当或者没有定期的检查和维修而发生事故。

传统离心机故障的理论是转子过量的不平衡引起的。而离心样品的称量误差;使用过程中转子内外表面被缓冲液部分腐蚀是造成转子这种不平衡的主要原因。但是往往却忽视了造成不平衡另一原因,即由于转子材料不均匀和内应力的释放而引起内部微观裂纹及表面宏观裂纹的失稳扩展,而且往往是恶性循环的。对离心机转子可能产生的裂纹扩展进行分析并采取一些相应的对策,可保证离心机的安全运转。下面仅对这一问题谈谈自己的看法。

离心机转子旋转时所产生的离心力为:

$$F = m \frac{V^2}{R} \quad (1)$$

m 为转子质量,若转子重量为 W ,重力加速度为 g ,则

$$m = \frac{W}{g}$$

V 为转子边缘的线速度,如果角速度为 ω 每分钟转数为 N ,转子半径为 R ,则

$$V = \omega R = 2\pi NR,$$

若转数化为每秒钟的转数,则 $V = \pi NR/30$,这样(1)式中所表示的离心力为:

$$F = \frac{W}{g} R \left(\frac{\pi N}{30} \right)^2 \quad (2)$$

如果要计算转子产生的最大离心力,只要取转子最大的额定转数 $N_{\max}$,若是圆锥形转子取离心试管孔底到转轴中心的半径,代入(2)式即可算出,可是在实际使用离心机时,往往采用转子旋转时产生多少倍的重力加速度 g 来表示离心力的大小,我们称之为相对离心力

$$G = \frac{(\pi N)^2 R}{900g} \quad (3)$$

一般超速离心机说明书中都给出最大的 G 值。

离心机转子要作到绝对平衡是不可能的,即使刚出厂的新离心机转子也是不平衡的,因为材料不均匀等的微观缺陷,及加工方面的误差而造成的“本征不平衡”,不过这种不平衡是微量的还不足以引起事故。

若转子重心偏移轴心距离为 e ,而产生的不平衡力为

$$f = m e \omega^2 = m e \left(\frac{\pi N}{30} \right)^2;$$

f 力使转轴产生的挠度为: