

简 报

含有一种金属离子 Ca^{2+} -整合剂缓冲体系中 总 $[\text{Ca}^{2+}]_t$ 的计算*

谢宝田 周友明

(河北师范大学物理系, 石家庄)

孙大 业

(河北师范大学生物系, 石家庄)

在胞内钙信使的研究中, 使低钙浓度溶液 ($<10^{-3}\text{mol/L}$) 的计算与配制十分重要^[1,2]。Wolf^[3]曾对 Ca^{2+} -EDTA 或 Ca^{2+} -EGTA 缓冲体系中, 在预定的 EDTA 或 EGTA 浓度下 (如 1mmol/L), 根据所加入的总钙浓度 $[\text{Ca}^{2+}]_t$, 提出了所得缓冲体系中低浓度自由钙离子 $[\text{Ca}^{2+}]$ 的计算公式。在他的公式中已注意到 pH 值与温度变化对 $[\text{Ca}^{2+}]$ 的影响, 但不便于直接用于实验工作。因此我们推导出了与其相应的另一计算公式, 即在预定的 pH 值、温度及 EDTA 或 EGTA 浓度条件下, 根据实验工作者所需要的缓冲体系中自由钙离子浓度 $[\text{Ca}^{2+}]$, 计算出所需加入的总钙 $[\text{Ca}^{2+}]_t$ 的计算公式, 并设计了微机计算程序。本工作将所导出的公式进一步简化后, 还可以利用附表 4 给出的 P 、 B 计算因子值进行十分简便的计算。

本文所完成的一种金属离子 $[\text{Ca}^{2+}]$ 缓冲体系简便计算适用于配制单一低浓度 Ca^{2+} 标准溶液。

公式的由来与推导

在一种螯合物和一种金属离子组成的缓冲溶液中, 可以稳定地保持溶液里该金属离子的浓度。当我们需要了解自由金属离子浓度时, 可以采用 Wolf 所给出的方程。如二价金属离子 Me^{2+} , 其自由离子浓度 $[\text{Me}^{2+}]$ 为:

$$[\text{Me}^{2+}] = K_{\text{MeL}}^{(n-2)-} \cdot \frac{\text{MeL}^{(n-2)-}}{[\text{L}^{n-}]} \quad (1)$$

L^{n-} 是未质子化非螯合形态配基。

$\text{MeL}^{(n-2)-}$ 是金属离子螯合物。

由于在 EDTA 或 EGTA 中含有 L^{4-} , LH^{3-} , LH_2^{2-} , LH_3^{1-} 及 LH_4 , 因此总的螯合物浓度为:

$$[\text{L}]_t = [\text{L}^{n-}] \left[1 + \sum_{i=1}^n \frac{[\text{H}^+]^i}{\text{HK}_i} \right] \quad (2)$$

令

$$P = 1 + \sum_{i=1}^n \frac{[\text{H}^+]^i}{\text{HK}_i} \quad (3)$$

其中 K_i 为解离常数, $i = 1, 2, 3, 4$

所以未质子非螯合物的浓度可以表示为:

$$[\text{L}^{n-}] = \frac{[\text{L}]_t}{P} \quad (4)$$

在有二价金属离子的情况下, 溶液总浓度为:

$$[\text{L}]_t \approx [\text{L}^{n-}] \cdot P + [\text{MeL}^{(n-2)-}] \quad (5)$$

金属离子螯合物的浓度应基本上等于金属离子总浓度减去自由金属离子浓度:

$$[\text{MeL}^{(n-2)-}] \approx [\text{Me}^{2+}]_t - [\text{Me}^{2+}] \quad (6)$$

将⑥式分别代入①和⑤式, 整理得:

$$[\text{L}^{n-}] = K_{\text{MeL}}^{(n-2)-} \cdot \frac{[\text{Me}^{2+}]_t - [\text{Me}^{2+}]}{[\text{Me}^{2+}]} \quad (7)$$

$$[\text{L}^{n-}] = \frac{[\text{L}]_t - [\text{Me}^{2+}]_t + [\text{Me}^{2+}]}{P} \quad (8)$$

由⑦、⑧两式联立可以得到:

$$[\text{Me}^{2+}]_t = \frac{[\text{L}]_t - [\text{Me}^{2+}] + P \times K_{\text{MeL}}^{(n-2)-}}{1 + \frac{P \times K_{\text{MeL}}^{(n-2)-}}{[\text{Me}^{2+}]}} \quad (9)$$

这样, 用钙整合剂缓冲体系配制的溶液, 其总钙浓度表示为:

$$[\text{Ca}^{2+}]_t = \frac{[\text{L}]_t - [\text{Ca}^{2+}] + P \times K_{\text{CaL}}^{2-}}{1 + \frac{P \times K_{\text{CaL}}^{2-}}{[\text{Ca}^{2+}]}} \quad (10)$$

$[\text{L}]_t = [\text{EDTA}]_t$, 或 $[\text{L}]_t = [\text{EGTA}]_t$,

在进行实验时, 若螯合缓冲剂浓度确定, 例如

$[\text{EDTA}]_t = 1\text{mmol/L}$,

* 国家自然科学基金会资助项目。

表1 EDTA 及 EGTA 解离常数

	K_1	K_2	K_3	K_4	K_{CaL}^{2-}
EDTA	5.5×10^{-11}	6.9×10^{-7}	2.41×10^{-3}	1.03×10^{-2}	2.57×10^{-11}
EGTA	3.47×10^{-10}	1.41×10^{-9}	2.09×10^{-3}	1.0×10^{-2}	7.77×10^{-11}

pH 值取 6—10 之间某个值, 溶液中自由钙离子浓度维持在 10^{-10} — 9×10^{-3} 之间的某一确定数值时; 利用⑩式即可计算出在配制溶液时所需加入的总钙浓度 $[Ca^{2+}]_t$ 。其中 EDTA 和 EGTA 的四个解离常数应取 Wolf^[3] 表 1 中的数据。我们已将上述有关数据分别代入⑩式经微机计算了在配制溶液时所需加入的总钙浓度 $[Ca^{2+}]_t$ 。现将 pH = 7 时的部分结果列在表 2 中供参考*。

我们对获得的大量数据又进行了分析, 发现⑩式可以简化为下列形式:

$$[Me^{2+}]_t = \frac{[L]_t}{1 + \frac{B}{[Me^{2+}]}} \quad (11)$$

其中 $B = P \times K_{MeL}^{(n-2)-}$

若取缓冲剂为 EDTA, 那么将公式简化前后

表2 pH=7 时配制 $[Ca^{2+}]_t$ 所需总钙 $[Ca^{2+}]_t$ 数量

$[Ca^{2+}]_t$ mol/L	$[EDTA]_t = 1 \text{ mmol/L}$	$[EGTA]_t = 1 \text{ mmol/L}$
	$[Ca^{2+}]_t$ mol/L	$[Ca^{2+}]_t$ mol/L
1×10^{-10}	1.8648894×10^{-6}	$6.23574624 \times 10^{-8}$
1×10^{-9}	$1.83410906 \times 10^{-5}$	6.2322598×10^{-7}
1×10^{-8}	$1.57427453 \times 10^{-4}$	$6.19760898 \times 10^{-6}$
1×10^{-7}	$6.51458197 \times 10^{-4}$	$5.87120725 \times 10^{-5}$
1×10^{-6}	$9.50194094 \times 10^{-4}$	$3.84710249 \times 10^{-4}$

t = 20℃, pH = 7。

$[Ca^{2+}]_t$ 的两种计算结果作对比, 其误差小于 0.01×10^{-4} (参看表 3)。因此简化后的公式对我们来说是非常方便的。利用简化公式⑩式进行计算时, 请参照选用表 4 中的有关数据。

表3 简化公式与原公式计算 $[Ca^{2+}]_t$ 的比较

$[Ca^{2+}]_t$ mol/L	(原公式) $[Ca^{2+}]_t$ mol/L	(简化式) $[Ca^{2+}]_t$ mol/L
1×10^{-10}	1.865×10^{-6}	1.865×10^{-6}
1×10^{-9}	1.834×10^{-5}	1.834×10^{-5}
1×10^{-8}	1.574×10^{-4}	1.574×10^{-4}
1×10^{-7}	6.515×10^{-4}	6.514×10^{-4}
1×10^{-6}	9.502×10^{-4}	9.492×10^{-4}

t = 20℃, pH = 7。

表4 简化计算 $[Ca^{2+}]_t$ 时 P、B 值

pH	P_1	B_1	P_2	B_2
6	44545.5937	$1.14482176 \times 10^{-6}$	2041937.57	$1.58658549 \times 10^{-4}$
7	2082.69874	$5.35253576 \times 10^{-8}$	20670.9543	$1.60613315 \times 10^{-6}$
8	185.45324	$4.76614827 \times 10^{-9}$	233.627367	$1.81528464 \times 10^{-8}$
9	19.2081686	$4.93649934 \times 10^{-10}$	5.91992483	$4.5997816 \times 10^{-10}$

表中 P_1 、 B_1 为 EDTA 时的 P、B 值; P_2 、 B_2 为 EGTA 时的 P、B 值。

参 考 文 献

- [1] Cheung, W. Y.: *Biochem. Biophys. Acta*, 1969, 197, 303.
- [2] Teo, T.J. et al.: *J. Biolchem.*, 1973, 248, 5950.
- [3] Wolf, H.D.: *Experientia (Basel)*, 1973, 29, 242.

[本文于 1988 年 10 月 17 日收到]

* 微机程序可向作者索取。

气管炎、哮喘根除灵注射液的制备工艺

呼吸道疾病为国际公认第二大疾病。全世界的呼吸疾病专家都在寻求根治此病之路。

本产品不用传统的中药, 也不用西药, 而用动物器官为药源, 利用简单的加工工艺制成此“注射液”。本专利被国家专利局列为世界“发明型专利”。

用本品治疗气管炎、哮喘, 见效快, 治愈率高, 将注射液注入穴位后 10—20 分钟, 就有明显疗效, 三针为一疗程, 三疗程即可治愈。用此药源治病, 经土法临床

实验, 有效率达百分之百, 治愈达百分之八十。

本产品投资十万元或更多, 职工 10 人, 即可批量生产。本产品利润很高, 一盒共九支针液, 每盒成本 40 元, 售价 200 元, 估计出口每盒 200 美元, 第一年生产量最低估计十万盒, 实现利润 16000 元。本技术已向国家专利局申报并公告 (CN: 8710535.6) (23 号)。

通信处: 北京 867 信箱 20816 组李群, 邮政编码: 100024。地址: 北京市朝阳区平房东口发明城内