

内部资料

仅供参考

国内生物化学药品工艺汇编

第二集 酶

初稿

上海医药工业研究院技术情报站

注意保存

上海北京西路1320号

1972年12月

毛主席语录

鼓足干劲，力争上游，多快好省地建设社会主义。

抓革命，促生产，促工作，促战备。

综合利用大有文章可做。

把医疗卫生工作的重点放到农村去。

前 言

为了进一步贯彻毛主席教导我们“人类总得不断地总结经验，有所发现，有所发明，有所创造，有所前进。”和“中国人民有志气，有能力，一定要在不远的将来，赶上和超过世界先进水平”，我站根据迄今收集到的国内有关生物化学药品的生产工艺资料，加以分类、整理和汇总，编写成“本资料初稿”，供从事生化药品生产和科研的同志作参考。由于我们学习马列和毛主席著作不够，缺乏实践经验，编写时间仓促，一定会有不少错误和遗漏之处，希望广大工农兵、革命干部和革命科技人员提出宝贵意见，并提供有关材料，使在本资料初稿的基础上，继续补充和修改，以臻完善，更好地为社会主义革命和社会主义建设作出一点贡献。

上海医药工业研究院技术情报站

1972·11·

目 录

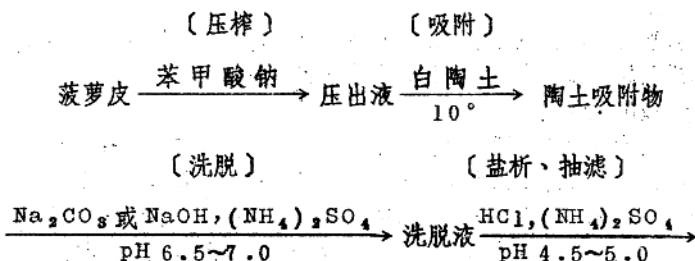
(1) 菠萝蛋白酶 Bromelinum.....	1
(2) 糜蛋白酶 α -Chymotrypsinum.....	5
(3) 注射用辅酶甲 Coenzym A Pro Iniectione.....	8
(4) 细胞色素丙 Cytochromi C.....	13
(5) 淀粉酶 Diastasum.....	21
(6) 透明质酸酶 Hyaluronidasum.....	24
(7) 乳酶生 Lactasinum.....	28
(8) 溶菌酶 Lysozymum.....	32
(9) 胰酶 Pancreatinum.....	35
(10) 胃蛋白酶 Pepsinum.....	37
(11) 复合磷酸酯酶 Phosphoesterasum.....	40
(12) 双链酶 Streptokinasum et Streptodornasum.....	42
(13) 注射用链激酶 Streptokinasum Pro Injertione.....	51
(14) 凝血质 Thromboplastinum.....	55
(15) 胰蛋白酶 Trypsinum.....	59

菠萝蛋白酶

- 异名** 菠萝酶 (Bromelin), Ananase, Anatase, Bromelyme
- 用途** 本品适用于各种急性、慢性炎症及水肿；外科创伤或手术后伤口愈合，骨折或脱臼引起的炎症；水肿、血肿、哮喘性支气管炎、肺炎、肺脓肿、骨髓炎、关节炎、蜂窝组织炎、肾盂肾炎、血栓静脉管炎及其他发炎、肿胀疾病。
- 用法与用量** 口服每次1~2片（肠溶片：每片含菠萝蛋白酶0.1克，相当于4万福林单位），每日3~4次；于饭前2小时空腹用温开水送服，整片吞下，不得咬碎。严重疾病可适当加量，最好同时应用抗菌药物或其他治疗药物。
- 注意** (1) 肠胃道溃疡、严重肝、肾病或血液凝固机能不全的病人慎用。
(2) 本品能助消化、引起食欲增强现象、并无其他副作用。
- 贮藏** 置遮光容器内，密闭，在干燥，阴凉处保存。

技术路线

(I) 法：



沉淀物

〔溶解〕

〔沉淀、分离〕

〔干燥、粉碎〕

自来水, NaOH $\xrightarrow{\text{pH } 7.0 \sim 7.5}$ 澄清液 $\xrightarrow[\text{pH } 4.0]{\text{HCl, (NH}_4)_2\text{SO}_4 \text{ 或 NaCl}}$ 精制品 $\rightarrow$

成品

(II) 法:

〔压榨〕

〔除去杂质〕

新鲜菠萝茎(去皮) $\rightarrow$ 压出液 $\xrightarrow[10^\circ, 12 \text{ 小时}]{\text{NaCl}}$ 澄清汁液

〔稳定〕

〔吸附〕

$\xrightarrow{\text{EDTA-2Na, SO}_2, \text{抗坏血酸}}$ 稳定液 $\xrightarrow{\text{鞣酸}}$ 鞣酸吸附物

〔洗脱〕

〔干燥、粉碎〕

$\xrightarrow{\text{抗坏血酸}}$ 洗脱液 $\rightarrow$ 成品

工艺规程

(1) 压榨

将菠萝皮经压榨机压出汁液,按皮汁加0.05%苯甲酸钠作为防腐剂,送入原料库(内鼓冷风降温)内,存放备用。

(2) 吸附、洗脱

将压出汁液置不锈钢制保温缸中,不断搅拌,转速40~60转/分,加汁液量的4%白陶土(新会土产公司陶土粉编号7),在10°吸附15~20分钟,静置过夜,次晨白陶土沉降良好,虹吸除去85%以上皮汁;留下含少量皮汁的湿陶土,加入碳酸钠饱和溶液或6.6%NaOH调节pH值6.5~7.0,再加入按湿土计5%的硫酸铵或食用精盐,搅拌25~30分钟,进行洗脱,随即用压滤机进行压滤。

(3) 盐析、抽滤

压滤后的澄清洗脱液放在钢桶或瓦缸内，加入9%的盐酸（浓盐酸：水=1：3），调节pH值4.5~5.0，再加20~25%的硫酸铵（或25%精盐）进行盐析，用木棒轻轻搅动，使硫酸铵溶解之，离心分离或贮放于冷库内，次晨，虹吸出上层硫酸铵溶液，下层是析出之稀酶糊，离心分离；离心后粗酶糊经布氏漏斗抽滤除去部份硫酸铵溶液，抽滤至干，贮放于-20°左右冷库内待精制。

(4) 溶解、沉淀、分离

粗酶糊加入8~10倍量的自来水（最好用冰水），用16%氢氧化钠调节pH 7.0~7.5，轻轻搅拌使水解之，但要防止发泡，迅速压滤，分离除去杂质，得澄清液，最后用少量自来水冲洗管道及压滤机；将洗液和上述澄清液合并，不断搅拌，加入9%盐酸调节pH值4.0，使酶析出，离心分离，得湿的菠萝蛋白酶精制品。

(5) 干燥、粉碎

将上述精制品抽滤至滤饼产生裂纹，除去部份水份，用风扇吹至半干，在真空干燥器（内放硅胶吸潮）中减压或鼓风干燥，呈颗粒状；置于球磨机内进行粉碎成粉末状，即得成品（所得率：0.3725克/吨，按菠萝皮重量计算之；含量：30万福林单位/克）。

(II) 法：

(1) 压榨、除去杂质

将冷冻保护的去皮菠萝茎25公斤，解冻后破碎压汁，首先压出液按汁液量加10%的氯化钠，在10°下自然沉降12小时，弃去沉淀物，得到澄清汁液6.5公升（2,833福林单位/毫升）；残渣用柠檬酸调节pH值4.5的10%氯化钠泡浸30分钟，进行二次压汁，压出液在10°下自然澄清14小时，分离后得澄清汁液5.6公升（2,500福林单位/毫升）。

(2) 稳定、吸附

混合上述澄清汁液，按汁液加0.05%的二胺四乙酸二钠盐（EDTA-2Na），0.06%的二氧化硫，0.02%抗坏血酸作稳定剂，搅拌后按汁液量加入0.4~0.6%的鞣酸，进行吸附。

(3) 洗脱、干燥

将鞣酸吸附物沉淀用 pH 值 4.5 抗坏血酸溶液洗脱，离心分离或过滤压干，用硅胶（或无水氯化钙）减压干燥，或冰冻干燥，得成品（所得率：4.92 克/公斤，按去皮菠萝茎重量计算之；含量：13.8 万福林单位/克）。

资料来源

(1) 广西壮族自治区南宁制药厂：“菠萝蛋白酶—临床总结报告 118 例 1970.8.”

(2) 广东罐头厂：“药用菠萝酶试产总结 1969.9.”

(3) 广东菠萝蛋白酶试验组：“菠萝酶（茎）的试验 1971.2”

糜蛋白酶 α — Chymotrypsinum

异名 糜蛋白酶—甲 (α -Chymotrypsin.), Chymar, Chymetin.

用途 (1)外科：适用于创伤或手术后创口愈合，抗炎及防止局部水肿、积血、关节积血、扭伤血肿、乳房手术后浮肿等。

(2)眼科：用于手术时晶体韧带之松解。

(3)耳、鼻、喉科：适应中耳炎、鼻炎、鼻窦炎。

(4)其他内外炎症。

用法与用量 (1)外科：本品5毫克，用生理食盐水溶解后肌肉注射，本品亦可与抗菌素合用，由医师视病情斟酌决定。

(2)眼科：将本品用生理食盐水配制成1/5,000浓度之溶液，由瞳孔注入后房，于晶体浮动后即用生理食盐水冲洗。

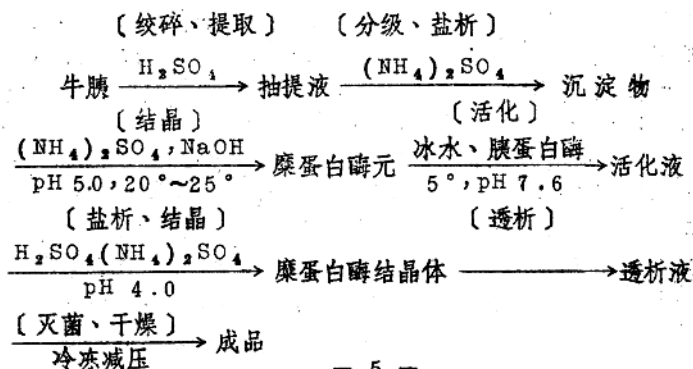
(3)耳、鼻、喉科及其他内外炎症：同外科或遵医嘱。

注意 (1)本品不可作静脉注射。

(2)本品可能引起过敏反应，可用抗组织胺类药物处理。

贮藏 本品贮藏于阴凉处。

技术路线



工艺过程

(1) 绞碎、提取

牛宰杀后在 $\frac{1}{2}$ 至1小时内取出胰脏，立即用镊子和剪刀将脂肪、结缔组织等除去，此项整理工作应尽快进行，以防止酶元自行活化。将整理后胰脏立即浸入预先冰冻之0.25 N硫酸（每公升水中加6.9毫升（浓硫酸比重1.84）中，迅速冷却，在0°度左右保存，待积满100公斤后即行投料。将胰脏自酸中取出，用绞肉机（绞孔 ϕ 3毫米）连绞三次成浆，将牛胰浆用2倍量冰冷0.25 N硫酸（包括原先浸泡胰脏之酸液在内），在冷室中浸渍提取24小时，在浸渍期中，每隔1~2小时用竹棒搅拌一次。将浸渍物用粗滤袋（或二层纱布）过滤，滤出液呈乳白色，滤渣再用1倍量冷0.25 N硫酸浸渍一小时，再行过滤，滤干后弃去滤渣；合并两次滤液，每公升滤出液加入固体硫酸铵24.2克，使硫酸铵浓度达0.4饱和度，放置冷室过夜；将上层清液用虹吸法吸出；底层沉淀，加入适量硅藻土为助滤剂，用滤纸减压（或布袋吊滤）过滤；合并上清液和滤液，得提取液。

(2) 分级盐析、结晶

将每公升提取液续加固体硫酸铵20.5克，使硫酸铵浓度达0.7饱和度，放置冷室中过夜，次日吸去上层清液弃去；底下沉淀在布氏滤斗上用滤纸减压过滤至干，称其重量，按滤饼重3倍量之冰水溶解之，重复上述硫酸铵0.4和0.7饱和度分级沉淀。取第二次0.7饱和度沉淀滤饼，称其重量，用1.5倍量冰水溶解之，加入滤饼重0.5倍量饱和硫酸铵溶液，并用5 N氢氧化钠调节pH值达5.0为止；静置恒温箱中，在25°保温48小时，进行结晶（取结晶液一滴置载玻片，用100倍显微镜观察，应有明显细针状结晶），将结晶用大型布氏滤斗减压抽滤至干，即得糜蛋白酶元粗制品（所得率：5~6%，按牛胰重量计算之），滤液供胰蛋白酶元制备用。取粗制品称其重量，加入7倍量冰冷蒸馏水，并滴加5 N硫酸使pH值达2.0左右，使溶解之，溶液置布氏滤斗上用酸洗滑石粉过滤，滤液应澄清，加入2倍量饱和硫酸铵溶液，并滴加5 N氢氧化钠，使pH值达5.0，在20°

~25°保温静置4小时以上,即有白色沉淀物析出,置显微镜下观察为棒状结晶,过滤,弃去滤液,沉淀再按同法重复结晶3次,得糜蛋白酶元结晶体。

(3) 活化、盐析、结晶

称取糜蛋白酶元结晶体,按其重量加入3倍量冰冷蒸馏水,并滴加少量5 N硫酸使溶解之;然后加入1倍量pH值7.6 $\frac{1}{2}$ M磷酸盐缓冲液及与所加入之5 N硫酸相当量N氢氧化钠,使pH值稳定在7.6,再加入少量胰蛋白酶(每100克糜蛋白酶元,用150倍以上胰蛋白酶5毫克),置5°冰箱中活化48小时,然后用N硫酸调节pH值至4.0,加入固体硫酸铵(0.5公斤/公升,按溶液计算之),即有沉淀析出,放置2小时后用布氏漏斗减压过滤,弃去滤液(可回收部分结晶)。取以上沉淀物称其重量加入 $\frac{3}{4}$ 倍量0.01 N硫酸使其溶解,所得溶液用酸洗滑石粉滤清,加入少量糜蛋白酶—甲结晶进行接种,然后在20°~25°放置24小时,即有大量结晶生成,用布氏漏斗减压滤干。

(4) 透析、灭菌、干燥

将以上结晶体加入2 $\frac{1}{2}$ 倍量重蒸馏水,并滴加0.01 N硫酸使溶解之,每只透析纸囊(玻璃纸袋),装溶液350毫升,悬于水浴中,使内外溶液在同一水平线上于5°冰箱中或冷室中用自来水连续透析48~72小时(直至透析液用氯化钡试液检验无显著沉淀颗粒即可)。将透析液用酸洗滑石粉滤清,立即移入无菌室中,在无菌橱中进行灭菌过滤,滤液分装于经高压灭菌处理之克氏瓶中,每瓶125毫升,瓶口用四层绸布包扎后立即冰冻干燥之,然后将干燥品移至无菌玻璃盘中,上盖绸布二层,扎紧后,在五氧化二磷真空干燥器中减压干燥之,直至水份合格后(2%以下),抽样化验,全部合格后进行分装即成(含量:>250单位/毫克)。

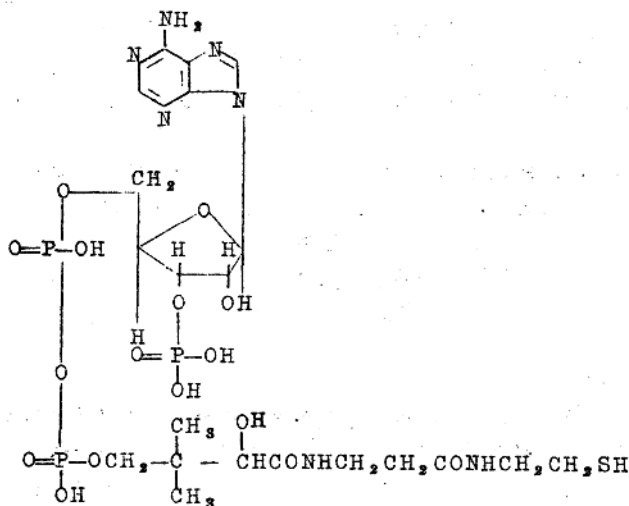
资料来源

(1) 上海生物化学制药厂:“结晶胰、糜蛋白酶、胰蛋白酶抑制剂”工艺规程1971.4。

(2) 内蒙古大学生物教研组:“结晶胰、糜蛋白酶、核糖核酸酶”1971.4。

注射用辅酶甲 Coenzym A Pro Injection

异 名 Coenzyme A, Pabst
结 构 式



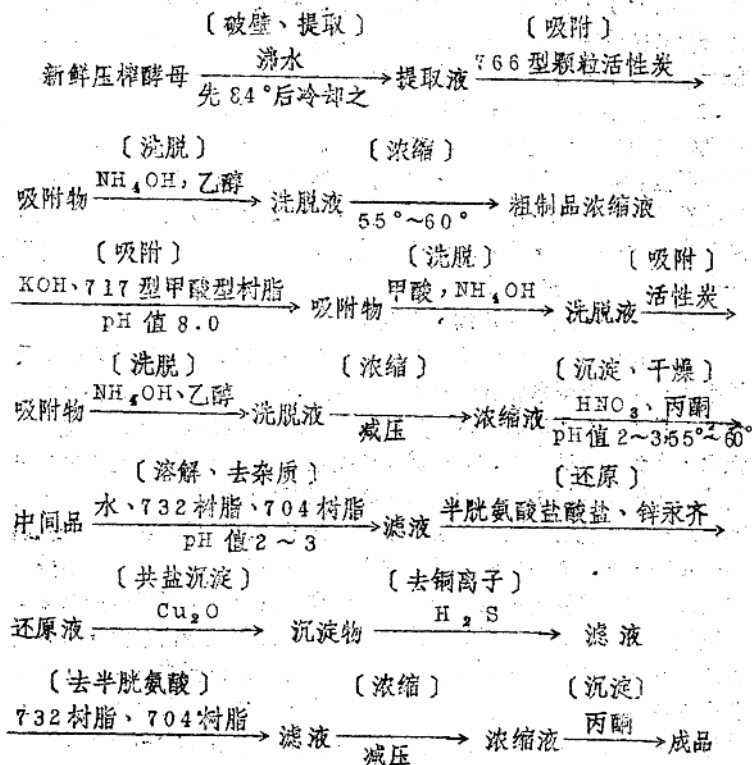
分子式及分子量 $C_{21}H_{36}N_7O_{16}P_8S = 767.55$

用途 治疗白细胞减少症、原发性血小板减少性紫癜、功能性低热等病的药物。对脂肪肝、肝昏迷、各种肝炎、冠状动脉硬化、慢性动脉炎、心肌梗塞、慢性肾功能不全所引起的急性无尿，肾病综合症，尿毒症等疾患可作辅助治疗药物。

用法与用量 以生理盐水或5%葡萄糖注射液溶解后使用，可供肌肉或静脉滴注。每天注射1~2次或隔天1次，每次一瓶（即50单位），一般以7~14天为一疗程。本品与

三磷酸腺苷（即ATP）、辅酶Ⅰ、辅酶Ⅱ及细胞色素丙等合用，临床效果更好。

贮藏 置遮光容器内，密闭保存。
技术路线



1. 破壁、分离

取新鲜压干酵母 1,000 公斤投入预先搅动的等量沸水中，立即升温至 84° ，放入碎冰中搅拌，冷却至 30° 以下，以离心机、绢丝袋

吊滤分离去渣（供提取细胞色素丙用），得上清提取液。

2 吸附、洗脱、浓缩

将上清液从柱顶以虹吸法加入“766”型颗粒活性炭柱（活性炭的处理是先投入桶中，以水浸没、真空抽去其气泡，活性炭量是120公斤），进行吸附，加入流速1.9~2.1公升/分；吸附完毕后，用自来水冲洗至流出液澄清为止，再用40%乙醇洗涤，直至以数滴洗液加十倍量丙酮不呈白混浊为止，约需1,600公升，再以3.2%氨乙醇（40%乙醇10公升中加浓氨水320毫升）洗脱，出现微黄色时开始收集，pH值约在6.0左右，洗脱液洗脱至加过量丙酮不呈明显白色混浊为止，边洗脱边真空浓缩，以除去乙醇及氨，浓缩至洗脱液体积一半即可，pH值应在7.0左右，真空浓缩的温度控制在55°~60°，即得粗制品浓缩液，备用。（保存在冰冻状态下，一个月左右不会失效。）

3. 吸附、洗脱、浓缩、干燥

将上述粗制品浓缩液（或冻结的粗制品融化后，若有不溶物，可滤去）用10N氢氧化钾调节pH值至8.0，再加入13.5公斤60~80目717甲酸型树脂（先以2N氢氧化钠处理，并以水洗至中性后，再加N甲酸及0.5N甲酸铵液处理之，再以N甲酸处理后即可使用），搅拌吸附16小时取出，树脂以蒸馏水洗清，然后上柱，用蒸馏水平衡，洗至中性，最后再用N甲酸及0.5N甲酸铵溶液（13.44公升甲酸、5.76公升浓氨水配成）洗脱，洗脱液约用320公升；洗脱后以虹吸方法上一根小的766型颗粒活性炭（活性炭是加2N盐酸浸没煮沸5分钟，用蒸馏水洗至中性可用）柱吸附脱盐，倾入流速约65~70毫升/分，吸附完毕后用蒸馏水洗至中性，以150公升左右的40%乙醇洗之，再以65公升左右3.2%的40%氨乙醇液洗下辅酶甲，真空浓缩至六公升左右，温度在55°~60°，浓缩液用8N硝酸调至pH值2~3，逐步倒入10倍以上调节pH值2~3的丙酮（工业用）沉淀之，离心去上清液，沉淀以无水丙酮洗1~2次，减压干燥得中间品。

4 溶解、去杂质

取上述中间品溶于5倍容量的水中（若有不溶物应离心除去），加入按中间品2.5倍量732强酸性离子交换树脂，搅拌5分钟，过滤，再以2倍水洗树脂，滤液合并。再加5倍704弱碱性离子交换树脂，调整pH值至2.0~3.0，迅速过滤，以3倍水洗沉淀，滤液合并。加入按中间品0.3倍量半胱氨酸盐酸盐，并以10N氢氧化钾调节至pH值7.0左右，放置10分钟，加入10N硫酸（1:1体积/重量，按中间体重量计算之），将已活化好的锌汞齐2.5倍（以2.5倍20目的锌粒，用2N硫酸活化5分钟，再用水洗去硫酸根，加入1%醋酸汞振荡10分钟，水洗去多余醋酸汞，再以N硫酸活化，即可使用），振荡10分钟，此时应有相当量的气泡产生，溶液色泽即由深变浅，倾出上清液，并以少许水洗锌汞齐粒二次，洗液与上清液合并后，在水浴中热至35°~40°，分次加入混悬的氧化亚铜（8:1.5=中间体:氧化亚铜），应较快溶解，每加一次后应以0.1毫升吸管吸出反应液，并观察管中反应液是否迅速呈白色混浊状，否则再加氧化亚铜，直至吸出检查时，反应呈白色混浊为止。随搅动迅速加入3倍量水中，即有大量白色沉淀析出。在离心机中分离得沉淀物，并以0.25N硫酸洗涤沉淀物二次（洗时以匀浆棒研磨），再水洗至液中不呈硫酸根反应为止。

5. 去铜离子、去半胱氨酸

将沉淀物悬浮于水（10:6=水体积:中间品重）中，将10N氢氧化钠调至pH 2.5 通硫化氢2.0~2.5小时，在通过1小时后，通华后，pH值仍不应低于3.5。以4N盐酸调节pH值至2~3，离心，倾取上清液，再以水少许洗残渣2次，合并洗液，呈无色或微黄色澄明溶液，加入5倍量732强酸性树脂，搅拌5分钟，布氏漏斗过滤，水洗树脂液合并，再以704弱碱性树脂调节pH值3.0，迅速过滤，合并水洗之液，如不清再经自然过滤，减压浓缩（水溶温度在50°~55°）至250毫升左右，再加入pH值3.0之20倍丙酮，剧烈振荡，有白色沉淀析出，放置10分钟，离心，以无水丙酮脱水二次，真空干燥即得成品。（收得率：3,000单位/公斤，以新鲜压榨酵母重量计算之）。

资料来源

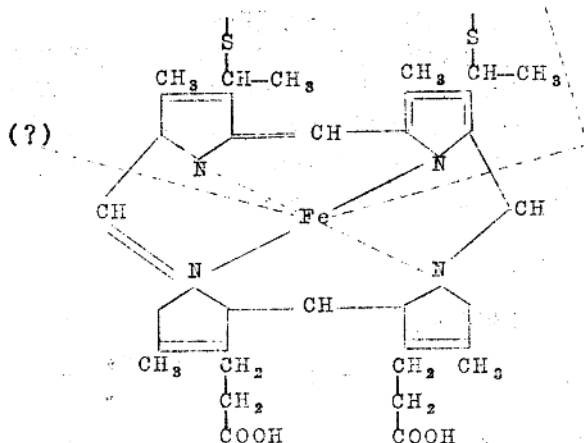
- (1) 上海生物化学制药厂：生物药品 1968
- (2) 上海酵母厂：辅酶甲生产工艺
- (3) 上海医药工业研究院：辅酶A制造工艺的研究总结 1967·7
- (4) 上海应用微生物展览会：“工业技术资料”汇编：微生物菌体的综合利用—第三辑—“从酵母中提取辅酶甲”
1972·3
- (5) 上海酵母厂：“上海轻工业”—“辅酶A生产工艺”

细胞色素丙 Cytochrome C

异 名 Cytochron, Cytomack, テトクローム C,
Cytochrome-C

结 构 式

—赖氨酸—苏氨酸—精氨酸—半胱氨酸—谷氨酸—亮氨酸—半胱氨酸
—组氨酸—苏氨酸— 氨酸—谷氨酸—赖氨酸—



分子式及分子量：13,000 左右

用 途：适用于组织一切缺氧情况的治疗如：用于脑血管障碍、
脑外科手术、脑软化、脑出血、脑外伤、婴儿百日咳病、
不可逆休克期缺氧、脑栓塞、脑震荡后遗症、乙型脑炎后
遗症、中毒性心肌损害、心肌炎、心肌不全、心绞痛、
白喉心肌炎、肺心病、心肌梗塞、麻疹肺炎引起的脑缺
氧、一氧化碳中毒、安眠药中毒、初生儿假死、麻醉前
处理、以及肺痿、矽肺、肺气肿、支气管扩张等引起的