



汪绍福 金善炜 田庚元 编

天花粉蛋白 的研究及其应用

天花粉蛋白的研究及其应用

汪绍福 金善炜 田庚元 编著

科学出版社

1979

内 容 简 介

本书系统地介绍了中药天花粉蛋白的发掘、性质、生产和鉴定方法,详细介绍了临床应用,并对作用原理进行了初步探讨。

本书内容通俗易懂,可供医务工作者、中草药研究人员以及赤脚医生和从事蛋白质生产的有关人员阅读参考。

261868

天花粉蛋白的研究及其应用

汪绍福 金善炜 田庚元 编著

*

科学出版社出版

北京朝阳门内大街137号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1979年5月第一版 开本:787×1092 1/32

1979年5月第一次印刷 印张:3 1/4

印数:0001—10,400 字数:60,000

统一书号:13031·981

本社书号:1383·13—10

定价: 0.35 元

编 者 的 话

运用近代科学的知识和方法来整理和研究中医中药，创造中国统一的新医学新药学，这是毛主席生前对我国科研人员和医务工作者提出的殷切期望。新中国成立后，在毛主席和中国共产党的领导下，祖国医药学得到了广泛的发掘和研究。用中药天花粉引产和治疗妇科疾病，就是在我国医药卫生战线的群众运动中涌现出来的。它是祖国医药学的宝贵遗产，也是中西医结合的一个成果。

自1967年以来，广大科研人员和医务工作者坚持理论联系实际，对中药天花粉进行了比较深入的科研和临床工作，于1973年制成了注射用精制天花粉蛋白。它用于中期妊娠引产，具有疗效高（98%）、出血少、使用简便、价格便宜等优点。同时，对死胎、宫外孕、葡萄胎和恶性葡萄胎等妇科疾病也有独特的疗效。对绒毛膜上皮癌也有一定的疗效。粉碎“四人帮”后，广大科研人员和医务工作者更是意气风发，迸发出极大的革命热情。最近，采用复方天花粉蛋白进行抗早孕的研究，也取得了很好的效果。

现在，注射用精制天花粉蛋白已在全国许多地区推广应用，广大群众迫切希望能有这方面的科普资料。为此，我们将天花粉蛋白的生产，临床应用及科研方面的有关资料进行了

汇编,供读者参阅。由于我们水平有限,内容难免有不当之处,恳请读者批评指正。

在本书编写过程中得到了芜湖市有关单位的大力支持,特别是芜湖市妇幼保健院等单位审阅了临床部份。北京妇产医院、北京医学院附属第一医院以及汪猷、周维善等同志悉心审阅了全部书稿,并提出了宝贵的意见。沈阳市计划生育指导所、上海瑞金医院等单位提供了有关标本照片。在完稿过程中还得到汪强华同志的大力协助,在此一并致谢。

编著者

1978年6月

目 录

第一章 天花粉蛋白的发展概况	1
(一) 天花粉的原植物	1
(二) 复方天花粉和天皂合剂	3
(三) 注射用天花粉(5毫克/支)	5
(四) 注射用精制天花粉蛋白(2毫克/支)	7
第二章 天花粉蛋白制备工艺及其鉴定	13
(一) 中药天花粉与天花粉蛋白的区别	13
(二) 天花粉蛋白的制备工艺	14
(三) 注射用精制天花粉蛋白的理化性质	16
(四) 精制天花粉蛋白的鉴定	19
(五) 药理试验	27
第三章 天花粉蛋白的临床应用	30
(一) 使用方法	30
(二) 注意事项	37
(三) 适应症	38
(四) 天花粉蛋白的一般副反应	62
(五) 个别严重反应的处理	67
第四章 天花粉蛋白引产原理的探讨	75
(一) 天花粉蛋白引产原理的探讨	79
(二) 复方天花粉蛋白抗早孕作用原理	85

后记	87
----------	----

附录 I 天花粉蛋白的生产	89
---------------------	----

1. 精制天花粉蛋白的生产	89
---------------------	----

2. 注射用精制天花粉蛋白 (2 毫克/支) 的制备	90
----------------------------------	----

3. 皮试天花粉原料及针剂 (1 毫克/支) 的生产	90
----------------------------------	----

附录 II 其它药理试验	92
--------------------	----

1. 狗的毒性试验	92
-----------------	----

2. 药物抗原性测定	93
------------------	----

3. 家兔股四头肌局部刺激试验	95
-----------------------	----

第一章 天花粉蛋白的发展概况

(一) 天花粉的原植物^①

植物品名: 栝楼, 瓜蒌。

学 名: *Trichosanthes kirilowii* Maxim

(属葫芦科 Cucurbitaceae)

植物形态: 多年生宿根草质藤本(见图 1)。块根肥厚, 外皮灰黄色(见图 2)。茎攀援, 长达 10 米, 多分枝, 表面有浅纵沟, 光滑无毛; 卷须腋生, 细长, 先端二歧。叶互生, 有长柄, 叶片近圆形或近心形, 长宽各 8—20 厘米, 常为 5—7 掌状深裂, 有时也有 3 裂, 裂片呈矩圆形、矩圆状椭圆形至矩圆状披针形, 先端急尖或钝尖, 边缘有疏齿, 或作缺刻状浅裂, 表面深绿色, 背面浅绿色, 幼时二面疏生柔毛, 老时背面有粗糙斑点。花单性, 雌雄异株, 花萼合生, 花冠白色。瓠果卵圆形至广椭圆形, 长 8—10 厘米, 直径 5—7 厘米, 幼时青绿色, 熟时呈黄褐色, 光滑无毛, 有肉质果瓢(见图 3)。种子多数, 扁平, 长卵形, 边缘有窄边线纹, 长 15—16 毫米, 黄棕色。花期 7—8 月, 果期 9—10 月。

① 《全国中草药汇编》 306 页 1975 年 人民卫生出版社

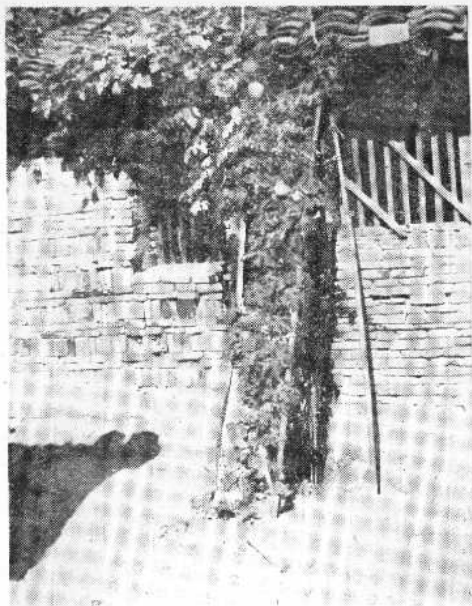


图1 栝楼生长形态

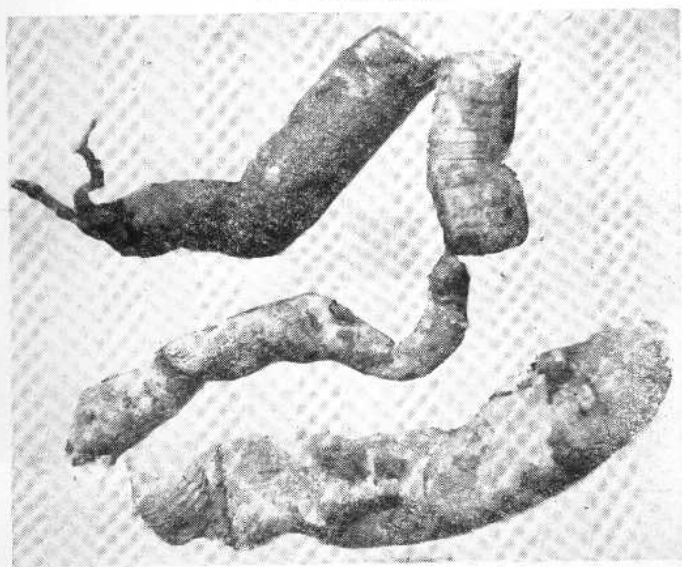


图2 栝楼根(即天花粉)

生态分布：生长于山坡草丛、林边、干燥向阴之处，亦有
人工栽培。分布于辽宁、河北、河南、山东、安徽、江苏、浙江、
福建、广东、广西、湖南、湖北、四川、贵州、云南、山西、陕西、甘
肃、青海等地。上海附近，以崇明、横沙、金山及浙江平湖新仓
产量较多。



图3 栝楼枝、果形态

1. 雌花枝 2. 果实

(二) 复方天花粉和天皂合剂

中药天花粉，在明代(1596年)李时珍所著的《本草纲目》

中已记载有“通月水”，“治胞衣不下”的功效^①。尽管它发现得很早，但解放前由于帝国主义、封建主义和官僚资本主义三座大山的压迫和剥削，我国科学的发展受到严重的阻碍，在医药上歧视中草药，所以长期以来天花粉的应用，很少有人从科学上加以整理提高，因而不能使这一祖国医药的宝贵遗产更好地发挥作用。

解放后，在毛主席和中国共产党的领导下，我国医药卫生事业获得了迅速的发展，对避孕药物也开展了广泛的研究，取得了很大的成绩。天花粉蛋白用于中期妊娠引产，是从医药卫生工作的群众运动中发掘出来的。原复方天花粉流传于湖北枣阳和江苏江阴民间，两地复方计有天花粉、牙皂、细辛、白芷、山萘、甘松、狼毒等七味生药组成，使用时将其它几味中药（总量约 24 克）用纱布扎成球状，浸泡在新鲜天花粉原汁中，然后再塞入孕妇阴道进行引产。

根据大量化学和药理实验证明，原复方中引产有效成份是天花粉蛋白；牙皂能刺激皮肤，起着帮助天花粉蛋白吸收的作用。天花粉蛋白和牙皂都有发热作用，而细辛可以解热，甘松能解诸毒。在这七味生药中，有的具有较强的毒性。例如，天花粉蛋白具有一定的毒性和较强的抗原性，牙皂有很强的溶血性（能使血球溶解）。细辛能使随意运动和呼吸运动麻痹。狼毒有很强的毒性。仅这四味而言，只要其中一味过量，就足以引起死亡。因此原复方尽管疗效高，但副反应也很大。据

① 李时珍：《本草纲目》 卷 18 草部 1018 页 人民卫生出版社

了解,用药后体温可达 40℃ 以上,加上并发其它副反应,以至使引产孕妇无法耐受,有的造成死亡。

在毛主席“中国医药学是一个伟大的宝库,应当努力发掘,加以提高”的指引下,南京、武汉地区的科技人员和医务工作者对原复方做了深入的调查研究。他们在民间临床的基础上进行了科学总结;在原复方七味生药中筛选出了天花粉和牙皂二味,并对天花粉进行了初步提取,制成了用于引产的胶囊或片剂,简称天皂合剂或天牙散,用药剂量大大下降,从原复方总量约 24 克下降到 500 毫克,并且获得了较好的引产效果。

(三) 注射用天花粉(5 毫克/支)

1966 年底中国科学院上海有机化学研究所在广泛深入调查研究的基础上,学习了武汉和南京天皂合剂的经验,于 1967 年和上海龙华医院等单位协作开展了天皂合剂的临床和科研工作,经初步分离提纯后,将天皂合剂的用量从 500 毫克降为 90 毫克(60 毫克天花粉,30 毫克牙皂),经临床试用,肯定了天皂合剂的引产效果。为了加快科研步伐,1969 年天皂合剂列入全国避孕药物研究的重点项目。并且加强了人力,从原来二、三个单位协作,增加到七、八个单位协作,这为天皂合剂获得迅速发展创造了有利条件。

天皂合剂用于中期妊娠引产,与水囊引产、剖腹取胎等方法相比,具有疗效高(成功率可达 96 % 左右)、出血少、方法简

便、价格便宜、药源广等优点，同时，天皂合剂对死胎、过期流产、宫外孕、葡萄胎、恶性葡萄胎等有独特的疗效，对绒毛膜上皮癌也有一定疗效，深受群众的欢迎。

天皂合剂与复方天花粉相比，虽然有了很大的改进，但仍存在着毒性和过敏的问题。为了解决这些问题，在有关领导部门的支持下，于1970年3月成立了上海市天皂合剂会战组。参加会战的同志通过深入的调查访问，获得了大量资料，经过科学分析，发现天皂合剂造成个别病人严重反应的主要原因有两个，一是药物过量吸收中毒，二是过敏。从动物实验证明注射单味天花粉，怀孕动物都能流产。注射单味牙皂则不能使怀孕动物流产，但有发热和严重的肌肉溃烂等现象。而在临床上，外用单味天花粉进行中期妊娠引产，则只对个别孕妇有效。这些结果使大家认识到牙皂可能是一味“引药”，能帮助人体吸收天花粉，而引产的主药可能是天花粉。因此设想，如果把外用天皂合剂改为单味注射用天花粉，可能会减轻一些副反应和降低用药剂量。通过反复实践，终于获得了成功。并于1972年5月在上海地区对注射用天花粉（5毫克/支）进行了鉴定，确定由上海生物化学制药厂生产。实践证明，注射用天花粉不但保持了天皂合剂的疗效，而且去掉了毒性较大的牙皂，又将天花粉的用量降至原来的十二分之一（从过去的60毫克外用降至5毫克肌肉注射），基本上防止了过量吸收中毒的危险。临床一般副反应也有明显减轻，注射部位虽有一些刺激反应，但没有出现溃烂。对由于天花粉本身存在的较强抗原性，临床使用时可能出现过敏反应的问题，也摸索出

了皮内注射试验及0.2毫克试探注射的预防方法和处理措施。初步制订了用药常规，基本上控制和降低了过敏反应的发生率。注射用天花粉的使用，不但提高了用药安全程度而且简化了用药手续。

(四) 注射用精制天花粉蛋白(2毫克/支)

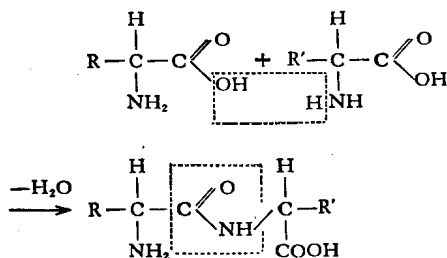
在叙述注射用精制天花粉蛋白以前先向读者简要地介绍一下什么是蛋白质？蛋白质在自然界里广泛地存在着。田里的大豆，树上的鸟，草原上的牛、羊，以至肉眼看不见的微生物、病毒等等。只要有生命的物质都有蛋白质。蛋白质是组成各种细胞的基础物质之一。伟大的革命导师恩格斯曾经指出：“生命是蛋白体的存在方式”“无论在什么地方，只要我们遇到生命，我们就发现生命是和某种蛋白体相联系的，而且无论在什么地方，只要我们遇到不处于解体过程中的蛋白体，我们也无例外地发现生命现象”^①。恩格斯所指的蛋白体，就是由存在于生物体内的蛋白质和核酸等所组成的复合体系。蛋白体不但是生物体的重要组成成份，而且催化、调节和控制生命活动过程的某些激素和防御微生物侵袭的抗体，也都是蛋白质和它的衍生物。可以这样说，没有蛋白质就没有生命活动。

那末蛋白质是怎样构成的呢？蛋白质是由许多 α -氨基酸

^① 恩格斯：《反杜林论》 79页 1970年 人民出版社

组成的 ($\text{R}-\underset{\text{NH}_2}{\underset{|}{\text{CH}}}-\text{COOH}$), 氨基酸是组成各种蛋白质的基本

单体, 它通过一个氨基酸的羧基 ($-\text{COOH}$) 和另一个氨基酸的氨基 ($-\text{NH}_2$) 之间缩合, 失去一个分子的水所形成的键而连接在一起, 两个氨基酸之间的这种键 ($-\text{CO}-\text{NH}-$) 叫做肽键:



仅由两个氨基酸相连而成的化合物, 称为二肽。如果由三个氨基酸相连则称三肽。依次类推, 由多个氨基酸相连就称多肽。若很多氨基酸通过肽键相互连接, 并且具有一定的空间结构则为蛋白质。一个简单的蛋白质分子可以形象地看成一根链条, 链条中的每一个环相当于蛋白质分子中的各个氨基酸。自然界里氨基酸主要有 20 种。一个蛋白质分子一般由几十、几百、几千甚至几万个氨基酸通过肽键相连构成。其构成氨基酸的种类、数目、前后排列次序和空间构型的不同, 就构成了各种各样的蛋白质。分子中氨基酸的线性排列次序叫做蛋白质的一级结构。蛋白质的多肽键还可以形成很复杂的、特异的螺旋体, 以及卷曲、折叠的空间构型, 我们称这种构型为蛋白质的高级结构。由于蛋白质分子结构的相互差

异,使它们表现出互不相同的生理功能。但它们的基本化学成份是一样的,都是由氨基酸组成的。所有的蛋白质用强酸或强碱在一定条件下都能完全水解成各种游离氨基酸。

以上简单地介绍了蛋白质的知识。从临床、药理和化学实验证明,注射用天花粉其引产有效成份为蛋白质。我们用分离提纯蛋白质的方法将天花粉纯化。发现它的蛋白含量依次递增,而疗效剂量依次递减(如表 1 所示)。

表 1 不同纯度天花粉的蛋白含量与疗效关系

不同纯度天花粉	蛋白含量*	药 理 试 验		临床有 效剂量
		疗 效	毒性 LD ₅₀ **	
原汁冻干天花粉	30%左右	0.5 毫克/只, 75%以上	2.26 毫克/只	
注射用天花粉 (5 毫克/支)	50%左右	0.2 毫克/只, 75%以上	0.6 毫克/只	5毫克/人
注射用精制天花粉 蛋白(2 毫克/支)	82%左右	0.05毫克/只, 75%以上	0.29 毫克/只	2毫克/人
结晶天花粉蛋白	100%	0.05 毫克/只, 100%	0.236毫克/只	

* 蛋白含量用双缩脲法测定

** LD₅₀ 表示半数致死剂量

注射用精制天花粉蛋白或结晶天花粉蛋白用 5.7 N 盐酸在 110℃ 水解后,用氨基酸分析仪分析结果它是由 19 种氨基酸组成的。

注射用天花粉虽然比天皂合剂前进了一大步,但还存在着药物质量较差等缺点。它的蛋白含量仅 40—50%,灰份为 20% 左右,糖为 5—7%,此外还有 20% 左右的成份未作鉴定。用琼脂加羧甲基纤维素的平板电泳鉴定至少有 4—5 个

斑点,见图4。用聚丙烯酰胺凝胶电泳鉴定有10条区带,见图5。经药理试验证明,其中一种为有效蛋白,其它为无效或低效蛋白。经免疫电泳证明这些无效蛋白大多具有抗原性,有4—5条弧线(见17页,图9-2)。说明可能有4—5种引起过敏的蛋白。同时这些无效蛋白也能引起发烧和其它副反应。因此进一步分离提纯天花粉有效蛋白,是降低副反应,提高用药安全程度的有效措施之一。为此,我们对天花粉的有效成份作了进一步的研究;用丙酮分级沉淀的方法,提纯了天花粉有效蛋白,制成注射用精制天花粉蛋白。它的蛋白含量提高到82%左右,灰份下降到10%左右,水份为8%左右。琼脂加羧

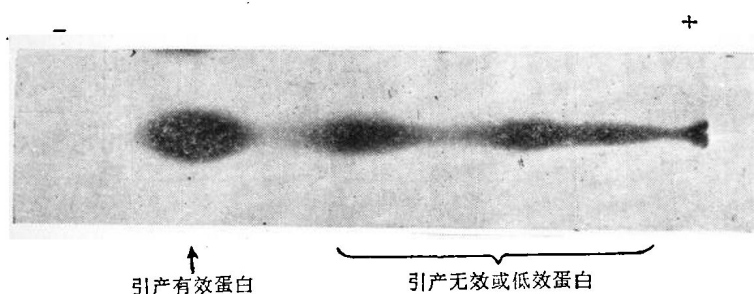


图4 注射用天花粉琼脂平板电泳

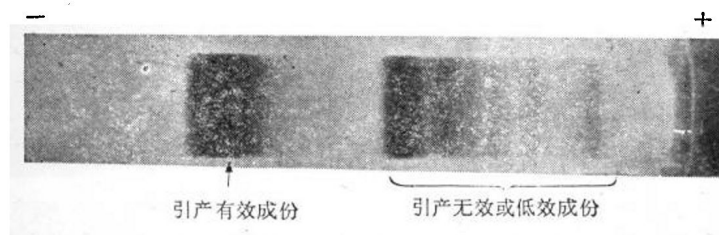


图5 注射用天花粉聚丙烯酰胺凝胶电泳