

天花粉引产有效成分——蛋白质的系统分离*

陈琼华 周志仁** 王淑如

Systematic Isolation of the Abortive Constituent of
Trichosanthes Kirilowii

Chen Qionghua Zhou Zhiren Wang Shuru

【摘要】天花粉引产的有效成分为蛋白质。天花粉中蛋白质的组分，纸上电泳可得到3个区带；醋酸纤维素薄膜电泳可得到6个区带，其中主要的3个区带，与纸上电泳的3个区带相当。用丙酮分级沉淀或甲醇沉淀，配合硫酸铵分级盐析等方法，从天花粉中提取和分离天花粉蛋白质，可得到引产活性最强的一种蛋白质。小鼠有效剂量为0.06毫克/只，它是天花粉引产的主要有效成分。

中药引产药天牙合剂是江苏省江阴县和湖北省枣阳县民间引产验方，原方由天花粉和牙皂等6味药（江苏方剂）或4味药（湖北方剂）组成。经南京药物研究所研究，由原来复方筛选出天花粉和牙皂两味药组成的有效药方，并分别进行提取，制成散（片）剂，称天牙散（片）***。经省内外四千余例的临床验证，中期引产成功率为95%以上，对宫外孕、葡萄胎、恶性葡萄胎、绒毛膜上皮细胞癌等都有一定的疗效^[2]。其后经进一步研究表明，天牙散（片）引产的有效成分是天花粉中的一种蛋白质（详见下述）。1970年以后，国内关于天花粉引产的科研已有许多报告^[3]。

一 天花粉引产的有效成分——蛋白质

天花粉原植物品名枯楼（*Trichosanthes Kirilowii* Maxim），属葫芦科，天花粉即枯楼的根。引产用天花粉是用新鲜生药，经洗净、去皮、压汁、离心、去淀粉，即为天花粉原汁，冻干后得黄白色粉末，称为原汁天花粉素。

将天花粉原汁用2—3倍有机溶剂（甲醇、乙醇或丙酮）沉淀，或用硫酸铵60%以上饱和度盐析，沉淀部分（称为天花粉总蛋白）具有蛋白质各种理化性质（如颜色反应等），并

1979年11月10日收稿

* 根据江苏省中药引产药协作组（参加单位有南京药物研究所、南京药学院、南京铁道医学院、南京妇幼保健院、南京新医学院第一附属医院、江阴县澄江人民医院等）1969～1970年科研档案资料（有关天花粉引产有效成分——蛋白质的分离部分）^[1]整理。

南京药物研究所王文华等同志参加天花粉蛋白引产动物实验工作。

**南京药物研究所

*** 江苏省中药引产药协作组天牙散（片）中药引产药科研为1978年全国卫生科学大会和江苏省科学大会得奖项目。

有引产活性，而沉淀的母液或沉淀透析物则无效。把天花粉原汁煮沸，使蛋白质变性凝固，或把天花粉用蛋白酶、酸或碱水解，其引产活性也随之消失。从上述可见，天花粉引产有效成分为蛋白质。

二 天花粉中蛋白质的组分

天花粉原汁或其硫酸铵盐析总蛋白，纸上电泳可得到3个区带，醋酸纤维素薄膜电泳可得到6个区带，其中主要3个区带与纸上电泳的3个区带相当。

天花粉中蛋白质的主要组分，按纸上电泳命名为1、2、3号蛋白质。这些蛋白质组分在巴比妥缓冲液pH8.6， $\mu=0.05\sim0.1$ 条件下，都向阴极泳动。泳动最快、走在最前面者为3号蛋白，其次为2号蛋白，在原点左右者为1号蛋白，说明天花粉中蛋白质都属于碱性蛋白质（见图）。

三 天花粉引产有效成分——蛋白质的分离

我们曾经研究下列几种天花粉蛋白质的提取、分离和纯制方法：

1. 盐析法

将硫酸铵加入天花粉原汁至60%饱和，以沉淀天花粉中总蛋白，纸上电泳鉴定，主要组分含有1、2、3号三种蛋白质。小鼠皮下注射0.25毫克/只，引产有效率为100%，临床试用于中期引产有效。

2. 甲醇沉淀法

(1) 将天花粉原汁用2—3倍甲醇沉淀，沉淀物水溶、过滤、滤液冻干，即得白色粉末，称甲醇水溶天花粉素*（江苏省中药引产药协作组临床使用的天牙片配方的主成分）。此制品含蛋白质52%，主要是2、3号蛋白，小鼠皮下注射引产有效剂量为0.06~0.15毫克/只，LD₅₀1.6~2.4毫克/只，临床用于中期引产，效果良好^[2]。

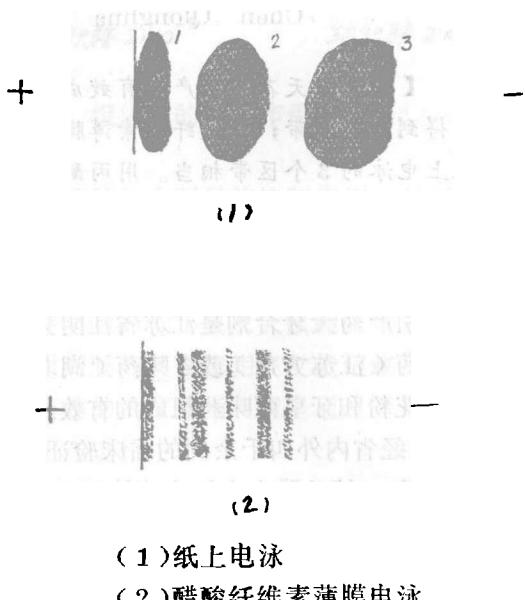
(2) 将甲醇沉淀水溶滤液，再放置沉淀，可得甲醇水溶放置天花粉素，主要含3号蛋白和少量2号蛋白。

(3) 将甲醇沉淀水溶滤液，相继以硫酸铵40%和60%饱和度进行盐析，可得到3号蛋白组分。

3. 丙酮分级沉淀法

将天花粉原汁相继以丙酮20%、40%和60%分级沉淀，再配合硫酸铵盐析（详见下述），可分别得到1、2、3号三种蛋白质组分。兹将上述分离方法综合如下：

图 天花粉原汁电泳图谱



(1) 纸上电泳

(2) 醋酸纤维素薄膜电泳

* 甲醇沉淀水溶法是南京药物研究所原先使用的方法，我们在此基础上进一步进行了分析和分离工作。

1. 盐析法

天花粉原汁 $\xrightarrow{\text{硫酸铵至}} \begin{cases} \text{母液(弃之)} \\ (\text{1000毫升}) \end{cases}$ $\xrightarrow{\text{沉淀水溶, 硫酸铵}} \begin{cases} \text{母液(弃之)} \\ \text{沉淀} \xrightarrow{\text{至50\%饱和}} \begin{cases} \text{水溶,} \\ \text{沉淀} \xrightarrow{\text{冻干}} \end{cases} \end{cases}$ 天花粉盐析总蛋白(含1、2、3号蛋白, 得量19克)

2. 甲醇沉淀法

天花粉原汁 $\xrightarrow{\text{甲醇}} \begin{cases} \text{母液(弃之)} \\ (\text{1000毫升}) \end{cases}$ $\xrightarrow{\text{沉淀水提三}} \begin{cases} \text{水提三次, 合并} \\ \text{沉淀} \xrightarrow{\text{至70\%}} \end{cases}$ 水溶液 $\xrightarrow{\text{放置沉淀, 甲醇水溶放置天花粉素(3号蛋白为主, 2号蛋白少量, 得量2克)}}$
 $\xrightarrow{\text{硫酸铵至}} \begin{cases} \text{沉淀(少量2号蛋白)} \\ \text{母液(弃之)} \end{cases}$ $\xrightarrow{\text{40\%饱和}} \begin{cases} \text{母液} \\ \text{硫酸铵至} \end{cases}$ 母液 $\xrightarrow{\text{60\%饱和}} \begin{cases} \text{水溶, 透} \\ \text{沉淀} \end{cases} \xrightarrow{\text{3号蛋白(得量1.8克)}}$ 沉淀析、冻干

3. 丙酮分离沉淀系统分离法

天花粉原汁 $\xrightarrow{\text{冰冷丙酮}} \begin{cases} \text{沉淀} \xrightarrow{\text{0.05M NaH}_2\text{PO}_4} \text{溶液} \\ \text{母液} \xrightarrow{\text{至20\%}} \end{cases}$ $\xrightarrow{\text{丙酮至15\%或调}} \text{丙酮至15\%或调}$ 水溶 $\xrightarrow{\text{pH至7.4或两者兼之}} \text{沉淀} \xrightarrow{\text{冻干}} \text{1号蛋白}(得量0.6克)$
 $\xrightarrow{\text{丙酮至30\%}} \begin{cases} \text{沉淀(含2号及少量1号蛋白)} \\ \text{母液} \xrightarrow{\text{丙酮至40\%}} \end{cases}$ $\xrightarrow{\text{沉淀**水溶, 硫酸铵}} \text{沉淀水溶, 硫酸铵}$ $\xrightarrow{\text{沉淀水溶}} \text{2号蛋白(得量1.5克)}$
 $\xrightarrow{\text{丙酮至40\sim50\%}} \begin{cases} \text{母液} \xrightarrow{\text{丙酮至60\sim70\%}} \text{丙酮至60\sim70\%} \\ \text{母液} \xrightarrow{\text{丙酮至60\sim70\%}} \end{cases}$ $\xrightarrow{\text{母液(弃之)}} \text{沉淀} \xrightarrow{\text{水溶, 硫酸铵}} \text{沉淀水溶, 3号蛋白(得量3.5克)}$
 $\xrightarrow{\text{丙酮至60\%饱和}} \text{至60\%饱和} \xrightarrow{\text{透析冻干}} \text{透析冻干}$

* 1号蛋白另外分离方法：（1）将天花粉原汁加入冰冷丙酮至20%，沉淀水溶，加硫酸铵至35%饱和，沉淀水溶、过滤、透析、冻干，即得1号蛋白（得量0.5克）。（2）将天花粉原汁加入硫酸铵至30%饱和，沉淀水溶、过滤、透析、冻干，得于0.05M NaH₂PO₄，过滤，加丙酮至15%，放置，可得1号蛋白片状结晶。

**沉淀除2号蛋白外，如还含有微量1、3号蛋白，经水溶过滤后，1号蛋白即可除去。滤液可加入丙酮至30%，沉淀水溶，再加硫酸铵至40%饱和，可得2号蛋白，而微量3号蛋白则进入母液中而除去。

从上述分离得到的1、2、3号三种蛋白质组分，经纸上电泳鉴定均为单一点。其中3号蛋白得率和效价都最高，小鼠皮下注射，剂量0.06毫克/只，引产率80%以上，是天花粉引产的主要有效成分；2号蛋白得率和效价都较低，小鼠皮下注射，剂量0.4毫克/只，引产率100%；而1号蛋白得率和效价都最低，小鼠皮下注射，剂量1.0毫克/只，引产率100%（见下表）。

表 天花粉制品的引产效价和得率

天花粉制品	含蛋白质组分 (纸上电泳鉴定)	有效剂量(毫克/只) (小鼠皮下注射)	有效率 (%)	得率 (克/1000毫升原汁)
盐析总蛋白	1、2、3号	0.25	100	19
甲醇水溶天花粉素	2、3号	0.06~0.15	80~100	6
甲醇水溶放置天花粉素	3号(主要)、2号(少量)	—	—	2
1号蛋白	1号	1.0	100	0.6
2号蛋白	2号	0.4	100	1.5
3号蛋白	3号	0.06	80	3.5

上述天花粉制品，从效价和得率来看，甲醇沉淀水溶天花粉素还比较可取，操作又简便，适于大量生产以供临床使用。但甲醇有毒性，对工作人员健康不利，可考虑改用乙醇或丙酮，尤其是后者。至于盐析总蛋白，得率虽高，但较粗糙。甲醇水溶放置天花粉素得率太低。丙酮分级沉淀配合硫酸铵盐析，可得到天花粉引产主要有效成分3号蛋白的纯制品，此方法步骤不太繁杂，得量也不低，而纯度又高，可避免1号和2号无效蛋白质由于其分子量较大而产生较强抗原性的不利影响，因此值得推荐。

参 考 文 献

- [1] 江苏省中药引产药协作组：天花粉、牙皂中药引产药科研档案资料（天花粉引产有效成分——蛋白质的分离部分）1969—1970
- [2] 江苏省中药引产药协作组：天花粉、牙皂中药引产药工作总结，1—6页，1972
- [3] 上海市天皂合剂会战组（1972年前）、上海市天花粉科研协作组（1972年后）等：避孕药科研参考资料，1:1—137，1976