

巩县风化煤黄腐酸的结构研究*

刘登良 张德和

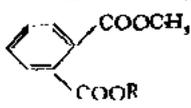
(中国科学院化学研究所,北京)

从巩县风化煤中提取的黄腐酸 (FA) 在人体和动物体中显示出较明显的生理和药理作用^[1-3]。为此,我们曾对这种 FA 进行了较细致的结构表征^[4]。从所得的结果来看,它与吐鲁番风化煤 FA^[5] 在结构上有一定的差别。本工作采用色谱/质谱 (GC/MS) 直接鉴定 FA 中低分子量的组分^[6]和鉴定高分子量的氧化降解产物^[7]。由此对两种 FA 的结构进行了比较。

从表征结果^[4]来看,巩县 FA 的数均分子量 (\bar{M}_n) 为 1035, 比吐鲁番 FA 的 ($\bar{M}_n = 426$) 大得多。将 40 克巩县 FA 用乙醚提取,只得到 0.19 克样品。提取后的残留物经甲基化,再在 240℃ 的气相色谱柱上没有分离出任何组分。

乙醚提取物用 CH_3N 甲基化后,在硅胶层析柱上用己烷、苯、氯仿、乙酸乙酯和甲醇作为淋洗剂进行分级,得到 G1~G5 五个级分。G1 级分用 GC 可分离出 20 个组分,但其色谱峰的强弱相差很大,不利于用 GC/MS 鉴定。我们只对其中三个最强的峰作了组分鉴定,结果见表 1。G2 级分用 GC 可分成 6 个组分,结果见表 1。G3-G5 级分所含的组分的分子量都较

表 1 G1 和 G2 级分的 GC/MS 分离鉴定结果

级分	组分	鉴定出的化合物的名称	m^{+MS} 基峰
G1	G1-1	邻苯二甲酸二丁酯	278, 149
	G1-2	10-甲基-十八脂肪酸甲酯	298, 74
	G1-3	邻苯二甲酸二(2-乙基)丁酯	390, 149
G2	G2-1	邻苯二甲酸二甲酯	194, 163
	G2-2	邻苯二甲酸甲乙酯	208, 163
	G2-3	邻苯二甲酸二乙酯	222, 149
	G2-4	邻苯二甲酸甲丁酯	236, 163
	G2-5	邻苯二甲酸二丁酯	278, 149
	G2-6	10-甲基-十八脂肪酸甲酯和  的混合物	298, 74 分子峰 163 太弱,

大,不能用 GC/MS 鉴定。

与吐鲁番 FA 的组成不同,巩县 FA 的小分子量

组分不仅含量很低,而且都不是多元取代的苯甲酸和酚酸。除了邻苯二甲酸外,其它的都是邻苯二甲酸酯类。这与 Khan 和 Schnitzer 研究的土壤 FA 所得的结果很相似^[8]。

我们用 KMnO_4 氧化降解巩县 FA,再用 CH_3N 甲基化所得到的降解产物。经用 GC/MS 鉴定出了 19 个组分,结果列于表 2。

表 2 巩县 FA 用 KMnO_4 降解得到的产物的 GC/MS 分离鉴定结果

序号	氧化降解产物的名称	M^{+MS} 基峰
1	邻苯二甲酸二甲酯	194, 163
2	间苯二甲酸二甲酯	194, 163
3	乙烯四酸四甲酯	260, 229
4	对苯二甲酸二甲酯	194, 163
5	14-甲基-十五酸甲酯	270, 74
6	1,2,4-苯三酸三甲酯	252, 221
7	邻苯二甲酸二丁酯	278, 149
8	10-甲基-十七酸甲酯	298, 74
9	1,2,3-苯三酸三甲酯	252, 221
10	4-乙酰基-1,2,3-苯三酸三甲酯	294, 279
11	1,2,3,4-苯四酸四甲酯	310, 279
12	1,2,3,5-苯四酸四甲酯	310, 279
13	1,2,4,5-苯四酸四甲酯	310, 279
14	苯四酸-乙酯-三甲酯	324, 279
15	苯五酸五甲酯	368, 337
16	苯五酸-乙酯-四甲酯	382, 337
17	苯六酸六甲酯	426, 395
18	苯六酸-乙酯-五甲酯	440, 395
19	苯六酸-丁酯-五甲酯	468, 395

从表上的结果可以看出,巩县 FA 的降解物主要是多元取代苯甲酸 (其中主要是苯四、苯五和苯六酸) 而没有酚酸。同时还出现较多的多元取代苯甲酸乙酯、丁酯和一部分长键脂肪酸。这是与吐鲁番 FA 的主要

* 1983 年 7 月 19 日收到。

不同点。结合以前的表征结果,我们认为巩县 FA 的芳香度较高,缩合环的结构更为复杂,还有待进一步用实验确证。

(本所张文信,王光辉同志协助进行 GC/MS 测定,特致谢意。)

参 考 文 献

[1] 袁申元,张德和,冯理达等 药学通报,17, 681(1982)。

[2] 北京同仁医院内科消化系、军事医学科学院二所一室、中国科学院化学研究所,北京医学, 2, 261(1980)。
 [3] 袁申元等,北京第二医学院学报, (1)57(1981)。
 [4] 张德和,宋恩兰,杨国仪,化学学报, 39, 401(1981)。
 [5] 张德和,刘登良,燃料化学学报 10, 121(1982)。
 [6] 张德和,刘登良等,化学学报, 40, 933(1982)。
 [7] 张德和,刘登良等,化学学报, 40, 1123(1982)。
 [8] S. U. Khan, M. Schuitzer, Can, Chem. Soc., 49, 2302(1971)。

(来源: 化学通报, 1984, 11: 19-20)

黄腐酸对大鼠十二指肠溃疡的影响

刘均利 张席锦 (北京医学院生理教研室)

本实验观察了黄腐酸对巯乙胺引起的大鼠十二指肠溃疡的影响。实验用 20 只雌性大鼠,体重 160~200 克,随机分为两组。经口灌入盐酸巯乙胺(700mg/kg,分两次)以制成溃疡模型。24 小时后处死,取胃十二指肠标本,观察溃疡指数。实验组另以 3 到 4 小时间隔,皮下注射 5 次黄腐酸(1%生理盐水溶液),剂量为 50mg/kg×5。以生理盐水作对照。

口服巯乙胺后 24 小时,对照组动物全

部在十二指肠球部产生了“吻合型”溃疡。黄腐酸抑制了十二指肠溃疡的发生程度。发病率由 100%降至 30% (P<0.005),溃疡指数(X±S.E.)由对照的 2.2±0.3 降为 0.6±0.3 (p<0.01)。同时,黄腐酸亦减轻了巯乙胺所致肾上腺坏死的程度。

腐植酸成分复杂,有广泛的生物活性,对多种实验性胃粘膜损伤有保护作用。本工作进一步表明黄腐酸对大鼠实验性十二指肠溃疡亦有抑制作用。

(来源: 生理科学, 1984, Z1: 36)

黄腐酸对大鼠胃的细胞保护作用

王德民 卢彦*(北京医学院基础医学研究所)

本工作的目的在于观察黄腐酸对无水酒精引起的大鼠胃损伤有无细胞保护作用。在乙醚轻麻下,将禁食 24 小时的大鼠幽门结扎,由口腔灌入无水酒精 1ml 以引起胃损伤,分别在使用无水酒精前 30 分钟、1 分钟和同时口服不同剂量的河南巩县黄腐酸(10mg/Kg 或 5 mg/Kg),对照组给予同量的生理盐水,一小时后将动物处死。结果表明:(一)使用无水酒精前 30 分钟,甚至前 1 分钟给予非抗酸剂量的黄腐酸(10mg/

kg 或 5mg/kg) 均能明显地预防胃损伤的发生,实验组粘膜损伤指数减少 62-85%;(二)黄腐酸与酒精同时使用,尽管实验组损伤指数减少 39-42%,但与对照组比较并无显著性差异;(三)不足以抑制胃酸分泌的两个剂量的黄腐酸均能预防胃损伤的发生,二者的作用程度之间无显著差异。

以上资料提示,黄腐酸对无水酒精引起的大鼠胃损伤具有明显的细胞保护作用,

* 桂林市卫校进修教师

(来源: 生理科学, 1984, Z1: 38)

黄腐酸对大鼠应激性胃粘膜损伤的影响

王德民 卢彦* (北京医学院基础医学研究所)

我们曾观察到侧脑室注射微量黄腐酸对大鼠应激性胃粘膜损伤具有明显的预防作用。本工作的目的观察皮下注射黄腐酸是否能有同样的作用。将禁食24小时的大鼠皮下注射黄腐酸(北京斋堂黄腐酸和河南巩县黄腐酸), 10~15分钟后给予冷-束缚刺激, 即将大鼠四肢捆在铁丝网上, 置于23~25℃水浴中, 水深与剑突齐, 4小时后将动物处死, 观察胃粘膜损伤情况。损伤程度按

Guth等的记分法用损伤指数表示。结果表明: 抑酸剂量(斋堂黄腐酸50mg/kg和10mg/kg)与不抑酸剂量(斋堂黄腐酸0.1mg/kg, 巩县黄腐酸5mg/kg)的黄腐酸对应激性胃粘膜损伤均有明显的预防作用, 损伤指数分别减少63%、70%、65%和42%。提示黄腐酸的抗溃疡作用并不取决于抑制胃酸分泌, 可能与细胞保护作用有密切的关系。

* 桂林市卫校进修教师

(来源: 生理科学, 1984, Z1: 38)

黄腐酸对大鼠实验性心肌梗塞的影响

韩启德 郝慧卿 王完 (北京医学院病理生理教研室)

黄腐酸(FA)对缺血心肌的影响至今未见报道。本实验利用大鼠慢性实验模型, 在结扎左冠状动脉主干前5分钟腹腔注射1%FA25mg/kg, 在结扎后头6小时内每小时加追加半量, 2天后, 测定梗塞范围(IS)和左室心肌收缩性(LVMC)。发现对照组(11例)的IS占左室58.0±1.3%, 而给药组(15例)仅占48.0±2.5%(P<0.001)。给药组的左室dp/dtmax, -dp/dtmax和MVSP分别较对照组高31%, V16%和22%, 差别都有高度显著性。实验还采用大

15分钟(8例), 或开胸致LVMC下降时(7例), 或大鼠LVMC正常时(9例)静脉注射1%FA12.5mg/kg, 分别观察这三种情况下FA对左室血液动力学的直接影响。结果发现在冠脉结扎后给予FA, 表现为主动脉压及左室内压增高, LVMC增强, 心率有加快趋势, 而FA对LVMC正常时的血液动力学则无明显影响。此外, 只要在LVMC下降的情况下(不管是冠脉结扎引起还是开胸引起), FA都表现有明显的强心作用, 作用的大小与给药时LVMC的下

(来源: 生理科学, 1984, Z1: 127)

腐殖酸钠治疗宫颈癌前病 变细胞学观察*

丁 华 薛宏基

(中国科学院生物物理研究所, 北京)

李久莉

(河南安阳地区医院)

刘瑞祥 张连英

(河南获加县亢村公社医院)

江振英

(河南获加县妇幼保健站)

宫颈癌在女性恶性肿瘤中占第一位, 严重危害妇女的生命健康, 直接影响社会劳动力。细胞病理学研究和临床观察均已证实, 宫颈癌的发生和发展, 是由量变到质变, 要经过一个相当长的癌前病变发展阶段, 其上皮组织细胞出现不同程度形态异常, 通称不典型增生或细胞核异质, 其中一小部分可持续发展为癌, 如下所示:

正常 → 单纯性 → 不典型 → 原位癌 → 浸润癌

增生 ↑ 增生 ↑

核异质细胞

I II_A II_B III IV V 细胞巴氏分级

* 这项观察是在河南医学院沈琼教授指导下, 得到了河南新乡地区和获加县卫生局的关心和支持, 获加县妇幼保健站和亢村公社医院许多同志协助配合工作, 并承蒙天津市中心妇产医院陈有仲主任审定了我们细胞涂片标准分级标准, 对本稿提出宝贵意见, 均在此致谢。

说明黄腐酸钠使微动脉血流加快的程度, 可能比表上记录的数字更快。

4. 综上所述, 河南巩县黄腐酸钠可能具有 α 受体阻断剂的作用, 能消除去甲肾上腺素引起的微循环障碍。但是否对 β 受体有兴奋作用尚待进一步研究。黄腐酸钠给家兔肌肉注射后1~3小时, 可使红细胞电泳时间明显缩短、全血和血浆比粘度显著降低, 改善血液流变学的作用。黄腐酸钠既能改善微循环、又能改变血液流变性, 其机理还不很清楚, 但这两个事实如能互相促进, 有可能使黄腐酸钠成为一种有希望的活血化瘀药。

参 考 文 献

- (1) 北京同仁医院腐殖酸研究室等, 北京医学, 1980, 2, 261.
- (2) 吕式琪等, 北京医学, 1980, 2 (1) 55.
- (3) 袁申元等, 北京第二医学院学报, 1981, 2 (1) 57.
- (4) 袁申元等, 中华医学杂志, 1982, 62 (8) 489.
- (5) 田牛, 《微循环》, 科学出版社, 第一版, 1980, P. 30.
- (6) 李时珍, 《本草纲目》石部九卷, 金石之三及土部七卷, 土之一.
- (7) 袁申元, 药学通报, 1982, 17, 681.
- (8) 张德和等, 化学学报, 1981, 39, 401.

通过细胞学普查，能发现早期宫颈癌，还能观察癌前期病变。现在对于早期宫颈癌可争取早期治愈的机会。然而，如在癌前期即能发现并予治疗，就可阻止细胞恶变发展，使之向正常转归，这在预防工作中是十分重要的，也是降低宫颈癌发病率的积极有效措施。最近年来关于宫颈癌及其癌前病变的治疗观察研究，无论是手术、化疗、放疗或其它物理治疗，均已取得很大进展，已有大量报导。但有关宫颈癌前病变的局部药物治疗，报道较少。

我们于1981—1982年间在河南获加县亢村和臣区两公社18个大队用细胞学方法普查了2459例已婚妇女。在涂片中找到有癌细胞共13例（有的已经手术与病理证实，均采取了治疗措施），在涂片中观察到细胞形态异常、有癌变倾向，细胞学上认为属于癌前病变者共153例。

鉴于腐殖酸在自然界有丰富的资源，腐殖酸钠外用可有消炎和促进溃疡愈合作用，在临床上治疗宫颈糜烂，阴道炎等妇科慢性炎症证明有肯定疗效。腐殖酸钠对外阴白念、外阴慢性上皮营养不良性疾病都有不同程度的疗效。此外，由动物实验证明，腐殖酸钠还有一定抗肿瘤作用。在食道癌高发地区内服腐殖酸钠治疗食道癌前病变患者，也看到了可喜的苗头。因此，由山东省薛城制药厂将腐殖酸钠制成栓剂，我们用它对普查出的宫颈癌前病变患者，通过三个疗程近一年时间的密切治疗观察，以细胞学为判断效果的指标，进行疗效分析。

一、细胞涂片的分级标准

按全国宫颈癌防治研究协作组江西会议（1978）上制订的五级分类标准，结合我们观察的实践，根据上皮和非上皮形态学的不同改变可分为：

I级（正常）：涂片中细胞形态正常，着色，排列大小均一致，背景较干净。

II级：有异常细胞，但可分为：

II_A（轻度增生，相当于组织学的单纯性增生）涂片中细胞浆有变形，核有轻度增大，虽着色加深但染色质均细，核较规则，排列，大小一致，背景可见细菌（如滴虫、杆菌、纤毛菌、霉菌、球菌等）感染，白细胞增多。还可见少量退变的白血球。

II_B（中度增生，相当于组织学的轻度不典型增生）：涂片中以中表层细胞为主，有轻度变形，染色质加深，略粗但均匀。细胞排列拥挤，大小略有差别，增生改变的细胞增多。胞浆丰富，核浆比较正常。背景中有炎症细胞并可见细胞细菌感染。

III级（重度增生，相当于组织学的不典型增生）：涂片中以中底层细胞为主，细胞出现间变改变，有可疑的恶性细胞核，核增大，且不规则，染色加深，颗粒粗糙，核边增厚，有核分裂相。细胞大小不一，排列无一定方向，胞浆较少，核浆比轻度倒置。有的结构模糊，难于肯定是良性或恶性者。

IV级（高度可疑癌，相当于组织学的重度不典型增生到早期原位癌）涂片中以底中层细胞为主，癌的证据不十分典型，癌细胞数量较少，核浆比倒置。

V级（癌）：涂片中以底中层细胞为主，找到典型的癌细胞，细胞形态有明显异常

改变，核增大，核畸形呈锯齿状或核凹陷等，染色质加深，粗糙且不均匀，核仁增多，核浆比明显倒置，细胞排列紊乱。背景可见吞噬细胞，细菌，陈旧红血球和细胞碎片等。

二、治疗与观察方法

我们将普查中经细胞学分析为Ⅱ_B、Ⅲ、Ⅳ级的，作为观察治疗对象，治疗前重新对细胞涂片多方会诊确定，有的需要再涂片对照确定。

我们这次共观察了135例，他们大部是社员，年龄30岁以下8人，31~45岁47人，45~60岁64人，60岁以上16人。他们的生育次数，0次1人，1~2次27人，3~5次34人，6次以上53人。

观察对象随意分为治疗组和对照组。治疗组的患者先后给予三个疗程药物治疗。每个疗程进行十次治疗（每次用栓剂一枚含有腐殖酸钠0.5克），要求患者临睡前先用1:5000高锰酸钾或稀食盐水将局部洗净，然后取栓剂一枚放进阴道深处。为防止溶化的药液外溢，可在阴道内塞棉球。24小时取去棉球洗净，即或隔日再用第二枚。用药期间禁止性交或盆浴，药物治疗时期共二个月。对照组不给药，但与治疗组同时观察。治疗期间依靠大队妇女主任配合随访，督促患者坚持用药，并了解用药自身感觉情况，作详细记录。我们对治疗组和对照组都观察了一年左右的时间，观察后均作细胞涂片复查。对照组复查后即给药治疗。前后涂片均用巴氏染色法染色。

三、从细胞涂片对药物治疗的评价

根据在观察前后涂片中细胞形态改变程度，通过比较，将患者情况分为五类：

1. 转为正常：观察后涂片中细胞转为正常，属于Ⅰ级者。
2. 好转：观察后涂片中细胞分级降低者。
3. 稳定：观察后涂片中细胞分级无明显改变者。
4. 进展：观察后涂片中细胞分级升高者。
5. 变癌：观察后涂片中新发现有癌细胞者。

药物的疗效则由治疗组与对照组相比较，并通过统计方法检验评定。

四、结果与分析讨论

135例宫颈癌前病变患者，通过一年观察对其前后细胞涂片分级，结果如表1，表2。由镜下观察所见，患者用腐殖酸钠治疗后，细胞形态有明显改变，呈现明显的药物反应。主要表现有细胞增大，营养丰富，角化增多，着色鲜艳，背景明朗，显示出激素水平增高，是为好转的迹象（照片1~8）。国外有报导，在腐殖酸—水杨酸浴疗后，患者雌激素水平增高，尿中17-酮类固醇排出增加。国内也有报导腐殖酸钠对实验小鼠有明显的雌激素样作用与卵巢分泌似有协同作用。我们通过上述细胞形态观察认为与此报导

表1 患者治疗组前后细胞涂片分级

治疗前	治疗后	I	I _a	I _b	II	IV	V
I _b	18	2	5	10	1	0	0
II	80	4	21	46	19	0	0
IV	2	0	0	0	1	1	0
合计	100	6	26	56	21	1	0

表2 对照组患者前后细胞涂片分级

观察前	观察后	I	I _a	I _b	II	IV	V
I _b	17	0	2	10	5	0	0
II	18	0	2	2	14	0	0
合计	35	0	4	12	19	0	0

是符合的。

由表1见，治疗组无论细胞分级在II_b、III或IV级的患者，治疗后均有一定数量较原降级，说明细胞增生程度减轻，癌变倾向减弱，少数已转为I级，只有一例从II_b升到III级有进展。就细胞分级维持不变者来看，也有一些改变或趋向好转，如患者张凤英治疗前涂片中已见少量癌变细胞。定为IV级。治疗后虽为IV级，但可见细胞有明显药物反应，细胞变大、变形、淡染、核染色质疏松。

与上所述相对比，对照组患者则无此改变，由表2见。虽然也有部分患者向正常自然转归，但绝大多数患者处于稳定，维持原恶变程度，(图9—10)尚有部分患者恶变升级进展(图11—12)，通常认为，癌前病变的自然发展趋向有三：1. 自然好转；2. 稳定不变；3. 发展变癌。根据我们初步观察的印象，自然好转尚占少数，所以必须采取积极治疗措施，不应掉以轻心。

所有观察对象，根据观察前后细胞增生程度的变化进行评价，归纳如表3。

表3 腐殖酸钠治疗宫颈癌前病变的疗效评定

分组	评定	转为正常	好转	稳定	进展	变癌	总计
治疗组	例数	6	64	29	1	0	100
	%	6	64	29	2	0	100
对照组	例数	0	6	24	5	0	35
	%	0	17.2	68.5	14.3	0	100

由表见，治疗组100例，经过腐殖酸钠治疗，好转者70例，好转率70%，对照组35例，好转者共6例，好转率17.2%，对照组比治疗组明显地低，两组经用统计方法作 χ^2 检验，得 $P < 0.001$ 说明有非常显著性差异。从进展病例作比较，治疗组有1例进展，

进展率为1%，对照组有5例，进展率为14.3%，对照组则比治疗组高， χ^2 检验得 $P < 0.01$ ，也有显著性差异。

综合上述，腐殖酸钠治疗宫颈癌前病变的初步观察结果，我们认为腐殖酸钠对宫颈癌前的不同程度细胞增生均有一定疗效，是一个好的苗头。由于我们观察的病例还不算多，观察时间还不长，对这些病例应进一步观察随访，并作深入进一步的研究。

关于用药物治疗观察宫颈癌前病变，促进细胞不典型增生向正常转归，是普查防癌的一个新课题。根据我们实际观察的体会，细胞学是观察癌前期变化，判断癌前病变转归的有力武器。但是真正掌握好这一观察工具也很不容易，虽然细胞学方法简单易行，对癌前病变判断分析可靠，能在基层普及推广。但应当指出，任何一种检查方法都不是十全十美的。细胞学也有它的局限性，它反映组织深部的变化不及病理学，有时易受人为或其他因素的影响，可因生理或病理的改变细胞出现假象。此外，我们还认识到，虽然我们的涂片标本均能取到宫颈内膜细胞，说明已通过容易发生癌变的鳞状上皮与柱状上皮交界区域。但可能在取材时宫颈过于暴露外翻，操作过重或涂片染色不佳发生细胞种类，数量甚至质的变化。细胞也会出现假象。这些因素的存在，有时可能会影响到结果的准确性和可靠性，这是我们在今后工作中必须要十分注意的问题。

我们在镜下观察还发现，治疗组患者在治疗组的涂片中，有些细菌如乳酸杆菌等不但没有减少，有的反而增多，这可能腐殖酸钠维持了阴道酸性的缘故。腐殖酸钠作为局部外用治疗药，患者反映有止血，止痒痒和减少分泌物等作用，大都无不良反应。患者还反映，在经过腐殖酸钠治疗后，有食欲增进，体力增强等情况好转，这是否可能腐殖酸钠在局部起作用外，还可由阴道吸收至血液而起全身作用。我们认为应开展这种新型生物利用度的研究，并对其在局部机体内的作用机理作深入一步的研究。

参 考 文 献

- [1] 江振英、刘瑞祥、张连英、丁华，2459例妇科普查和细胞涂片分析（1982年获加县妇科普查总结资料）。
- [2] 山西中医研究所，三年来腐殖酸钠治疗宫颈糜烂的临床分析（1981年全国腐殖酸会议交流资料）。
- [3] 左闰贝，黄腐殖酸钠治疗宫颈炎300例疗效观察（1981年全国腐殖酸会议交流资料）。
- [4] 姚德馨，腐殖酸治疗外阴白斑及外阴痒痒初步观察，北京崇文科技，医药卫生专辑，1980。
- [5] 姚德馨、于晶洁、章彤华、叶军、崔允文，黄腐酸治疗外阴慢性上皮营养不良性疾病的临床报告（1982年全国腐殖酸医药应用科研协作会交流资料）。
- [6] 付乃武、张立生、金兰平、郑平、薛宏基，腐殖酸的抗肿瘤作用及药理学研究，药学通报，1981，16，54—55。
- [7] 薛宏基、包德坚、丁华、常中和、陈化民，黄腐酸治疗食管癌前病变观察，河南医药，1981，1，19—21。
- [8] Hiller, E. Dtsch. med. Wschr., 1953, 78, 691—693.
- [9] Hiller, E. et al., Dtsch Wed. Wschr., 1952, 27/28, 1956.
- [10] 孟渝梅、徐润英、李奉惠、巩裕如，腐殖酸钠雌激素样作用的初步探讨（1982年全国腐殖酸医药应用科研协作会交流资料）。

（来源：全国第三次腐植酸化学学术讨论会论文集，1984：262-266）

新疆黄腐酸的止血、凝血及 缩血管作用的研究

姚发业

陈文斌

(新疆八一农学院, 乌鲁木齐) (新疆畜牧兽医科学院, 乌鲁木齐)

腐殖酸系自风化煤、褐煤或草炭中提出的一种高分子有机弱酸, 为各种不同分子量混合物, 结构极为复杂, 迄今尚未研究清楚。其成因主要是木质素和聚苯酚类物质解聚, 然后又与氨基酸共聚, 形成稳定而复杂的多相有机物。通过光谱分析测知其分子中苯环、稠苯环及杂环结构, 苯环间有键相连。苯环上的主要功能基团有羧基、羟基、甲基及醌基等。由于其来源不同, 因此其所含成份亦不尽相同。郑平对全国十四个腐殖酸主要产区黄腐酸做了功能基团的测定⁽¹⁾, 其中含羧基量最多的为吐鲁番黄腐酸, 高达3.1mg/g, 而湛江黄腐酸含羧基量最低, 为5.6mg/g。故各地区黄腐酸药理作用未必相同。

近来, 国内外对黄腐酸在医药方面的研究正在不断深入开展, 如日本将腐殖酸制成Castrohuma-复方钙盐制剂。

东德将腐殖酸制成Huminit-复方铋盐制剂治疗消化道溃疡, 西德用其复方制剂治疗风湿腰痛、神经痛; 波兰用来治疗肿瘤缓解疼痛, 疗效较好。1973年匈牙利学者发现腐殖酸影响癌细胞的核酸代谢。

我们对新疆吐鲁番生产的黄腐酸作了止血、凝血和缩血管作用的研究, 为临床应用提供依据。

实 验 部 分

本实验所用黄腐酸系吐鲁番地区鄯善化工厂1981年10月提供的样品, 纯度为48%, 以生理盐水将其稀释为0.5%、1%、1.5%及2%四种不同浓度的溶液, 再用NaOH溶液调整pH值为6.5—7。蒸汽灭菌后备用。

血小板稀释液为尿素改良法稀释液。

一、黄腐酸的止血作用

取重18—29克健康白鼠30只, 随机分为五组, 雌雄搭配, 每组六只(4雄、2雌)。第一组为生理盐水对照组, 第2—5组分别为0.5%、1%、1.5%、2%黄腐酸组, 每只鼠按1ml/100g体重计算剂量, 分别注射到腹腔1小时后, 于鼠尾尖剪去1.5cm, 记录开始出血到止血时间, 同时做血小板计数。结果见表1。

表1 黄腐酸对小鼠止血作用及对血小板数量的影响

组别	出血时间(秒)			血小板数 万/mm ³		
	平均值 \bar{x} (秒)	P值	可信限	平均值 \bar{x} (秒)	P值 ^注	可信限
生理盐水对照组	659	/	/	21.67	/	/
0.5%黄腐酸组	577	>0.5	/	25	0.1<P<0.2	/
1%黄腐酸组	309	0.1<P<0.2	/	28.33	0.1<P<0.2	/
1.5%黄腐酸组	230	<0.01	665.87—192.12	30.08	<0.001	11.04—5.70
2%黄腐酸组	75	<0.001	727.51—440.49	31.86	<0.001	13.315—7.07

注* 表中P值是将各黄腐酸组分别与生理盐水对照组比较求出,可信限为各黄腐酸组与生理盐水对照组,出血时间缩短值及血小板增加值的置信区间。

实验结果表明,黄腐酸具有明显地缩短出血时间及增加血小板的作用。但在其浓度低于1%时,则作用不明显。从结果还可以看出,止血作用随浓度增大而加强,同时血小板相应增加,自21.6增至31.86(万/mm³)。

二、黄腐酸对家兔的凝血作用

取健康家兔25只,随机分为五组,每组五只(雄2,雌3)。第一组为生理盐水对照组,第2—5组分别为0.5%、1%、1.5%及2%黄腐酸组,剂量为1ml/kg,用挑法测定凝血时间,即自兔耳静脉采血,取血一滴于直径约为1cm清洁载玻片上,然后用大头针尖横过血滴向上挑,直到挑起纤维蛋白丝为止,记录凝血时间,每只家兔在注射前均用此法测定其正常凝血时间,然后分别肌肉注射生理盐水及不同浓度的黄腐酸,于注射后0.5小时、1小时、1.5小时,用同法测定凝血时间,然后将注射前后做自身对照,求出P值,观察黄腐酸作用的显著性,结果见表2、表3。

表2 家兔肌肉注射生理盐水及不同浓度黄腐酸对凝血时间的影响

组别	注射前 凝血时间 \bar{x} (秒)	注射后凝血时间(秒)								
		30'	缩短时间 (秒)	P值	60'	缩短时间	P值	90'	缩短时间	P值
生理盐水对照组	55.4	51.8	3.6	>0.5	48.6	6.8	>0.4	51	4.4	>0.5
0.5%黄腐酸组	27.4	20.8	6.6	<0.05	15.6	11.8	<0.01	19.2	8.2	<0.05
1%黄腐酸组	26.8	12.2	14.6	<0.02	9.2	17.6	<0.01	14.4	10.4	<0.05
1.5%黄腐酸组	19	10	9	<0.01	6	13	<0.01	10.8	8.2	<0.05
2%黄腐酸组	18.2	5.4	12.8	<0.001	4.6	13.6	<0.001	8.6	9.6	<0.05

实验结果表明,黄腐酸可使家兔凝血时间明显缩短,其凝血作用的强弱随黄腐酸浓度的增大而加强,以2%时作用最强,且在注射后1小时左右,凝血效果明显,在注射后1.5小时后,凝血作用有所减弱,如2%黄腐酸注射后90分钟,可使凝血时间自注射前的18.2秒缩短至4.6秒,缩短时间为13.6秒,在1.5小时后,凝血时间缩短9.6秒。

表3 黄腐酸对家兔血小板影响 (肌肉注射2小时后)

组 别	血小板数(万/mm ³)	P 值
生理盐水对照组	31.52	/
0.5%黄腐酸组	33.06	>0.05
1%黄腐酸组	36.28	>0.05
1.5%黄腐酸组	40.72	<0.05
2%黄腐酸组	43.56	<0.01

为了更具体,而细致地衡量实验结果的精确度,根据公式 $m = \bar{X} \pm SXt$,按95%的机率水平求出各种不同浓度的黄腐酸在注射后1小时凝血时间缩短值的可信限即置信区间。

0.5%黄腐酸肌肉注射1小时后,其凝血时间缩短值将落在18.53—5.07秒之间,即 $m = 11.8 \pm 6.73$ (秒)。

1%黄腐酸肌注1小时后, $m = 17.6 \pm 7.17$, 即
24.77—10.43 (秒)

1.5%黄腐酸肌注1小时后, $m = 13 \pm 4.56$, 即
17.56—8.44 (秒)

2%黄腐酸肌注1小时后, $m = 13.6 \pm 3.7$, 即
17.3—9.9 (秒)

三、黄腐酸对蟾蜍肠系膜血管的缩血管作用

取健康蟾蜍30只,雌雄搭配随机分为六组,每组5只(雄3,雌2)。先用探针破坏脊髓,(但不破坏生命中枢),用大头针固定于蛙板上,打开腹腔,引出小肠,将肠系膜展平于蛙板孔上,并以大头针固定。在解剖镜下观察肠系膜血管内血液正常流动,然后用测微尺测量肠系膜血管口径(包括小动脉,小静脉,毛细血管),用红色纤维标定测量部位,记录正常值,然后第1—3组蟾蜍分别于颌下淋巴结注射1%、1.5%、2%三种浓度的黄腐酸溶液0.5ml,10分钟后,再测量管径(与前同),观察黄腐酸的全身缩血管作用,第4—6组蟾蜍分别将1%、1.5%及2%黄腐酸溶液滴于肠系膜上3滴,(用2ml注射器联结5*针头滴三滴),5分钟后再行测量管径,观察黄腐

表4 淋巴囊注射黄腐酸对蟾蜍血管的作用 单位:(mm) (放大60倍)

组 别	血管收缩值(mm)			P 值			可 信 限		
	动 脉	静 脉	毛细血管	动 脉	静 脉	毛细血管	动 脉	静 脉	毛细血管
1%黄腐酸组	0.557	2.228	0.928	<0.5	<0.05	>0.5	/	4.16—0.3	/
1.5%黄腐酸组	1.671	4.085	1.486	>0.05	<0.01	>0.05	/	5.81—2.36	/
2%黄腐酸组	2.971	4.457	2.043	<0.02	<0.001	>0.05	5.04—0.91	5.72—3.19	/
1%黄腐酸组	1.11	1.865	0.933	<0.4	<0.05	<0.1	/	3.7—0.03	/
1.5%黄腐酸组	1.86	4.103	1.30	<0.05	<0.01	<0.05	3.5—0.22	6.49—1.7	2.298—0.298
2%黄腐酸组	3.16	5.02	2.41	<0.01	<0.001	<0.001	4.19—2.13	6.05—3.99	3.72—1.11

注:表中可信限为血管收缩值信区间(按95%机率水平计算)

酸对血管的局部作用,将用药前后进行自身对照,检验其显著性,求出P值,结果见表4、表5。

实验表明黄腐酸对蟾蜍具有全身及局部缩血管作用,但以局部作用最强,其作用强弱与黄腐酸浓度成正相关。

结 果 与 讨 论

根据上述实验结果,可证实黄腐酸的作用有以下几点:

一、对血小板的影响

根据上述结果(见表1)表明黄腐酸可使小白鼠及家兔血小板数明显增多,其升高值与黄腐酸浓度成正相关。如白鼠腹腔注射0.5%黄腐酸1小时后,其血小板数为25万/ mm^3 (以下简称万),比对照组多3.33万,1%黄腐酸组血小板均值为28.33万,比对照组多6.66万,1.5%黄腐酸组,血小板均值为30.08万,比对照组多8.41万,差异显著,(可信限为11.04—5.78万),2%黄腐酸组血小板均数为31.86万,较对照组多10.19万,差异极为显著,(可信限为13.315—7.07万)。但在黄腐酸浓度低于1%时,则其P值大于0.05,差异不显著。兔血小板升高情况与小白鼠类似。血小板系由骨髓成熟的巨核细胞胞浆裂解散落形成^[2,3]。黄腐酸含有多种活性基团,进入机体后,可能刺激了骨髓造血细胞,加速了血小板的生成,减少网状内皮系统对血小板的破坏作用。

二、对血管的影响

黄腐酸对蟾蜍具有全身及局部缩血管作用(见表4、表5),尤其对局部缩血管作用最强。在解剖镜下可见,用药后血管壁变得清晰,致密,当用2%黄腐酸局部点滴时,可见微细毛细血管关闭,血液停止流动,不同浓度的黄腐酸虽然都有缩血管作用,但对静脉的缩血管作用最强,用药前后自身对照,P值均小于0.05,介于0.05—0.001之间。

1. 对毛细血管作用 向淋巴囊注射不同浓度的黄腐酸,对毛细血管收缩作用均不甚显著,P值均大于0.05,但在局部点滴时,1.5%及2%黄腐酸均可使毛细血管显著收缩, $P < 0.05$ 及 < 0.01 ,可信限分别为2.298—0.298和3.72—1.11mm,(按95%机率计算)。

2. 对小静脉作用 四种不同浓度黄腐酸淋巴结注射,对静脉收缩均较明显。P值分别是 < 0.05 , < 0.01 , < 0.001 ,浓度为2%时,可信限为5.72—3.19mm,局部点滴时,对静脉收缩作用更为显著。浓度为2%时,可信限为6.05—3.99mm。

3. 对小动脉作用 黄腐酸淋巴囊注射只有在2%浓度时,才对动脉有显著收缩作用, $P < 0.02$,可信限为5.04—0.91mm,局部点滴时,1.5%、2%黄腐酸对动脉收缩均显著较。P值分别是 < 0.05 及 < 0.01 ,浓度为2%时,可信限为4.19—2.13mm。

三、对止血、凝血的作用

实验结果表明(见表1、表2),黄腐酸可明显缩短小白鼠出血时间及家兔凝血时间,作用的强弱与黄腐酸的浓度成正相关。出血时间均值以对照组最高,试验组则随药物浓度的升高,出血时间依次递减。1.5%黄腐酸组出血时间与对照组比较, $P < 0.05$ 。

2%组与对照组比较, $P < 0.001$, 差异极为显著, 家兔肌注0.5%, 1%, 1.5%, 及2%黄腐酸后, 以60分钟时凝血作用最强, 其P值(分别为0.01、0.01、0.01及0.001)均小于0.01, 差异十分显著, 而60分钟以后则凝血作用逐渐减弱, 显然与黄腐酸在血中浓度有关。

根据上述实验结果, 黄腐酸的凝血、止血作用可能与下列因素有关。

①由于黄腐酸具有明显地缩血管作用, 故可使血液流速降低, 局部血流量减少, 毛细血管通透性降低, 甚至使微细血管关闭, 从而有利于止血。

②黄腐酸可使血小板数量明显增多, 而血小板可被许多生物因子^(4, 5), 如ADP、儿茶酚胺、5-HT、钙离子、乙酰胆碱及去甲肾上腺素所激活^(4, 5), 产生粘附, 聚集等一系列反应, 黄腐酸为高分子有机弱酸, 具有胶体性和吸附能力, 在局部可与血液胶体相混, 形成血栓, 同时它具有多种活性功能团, 可视为一种生物刺激剂, 而激活血小板, 使创口处的血小板粘附聚集⁽⁵⁾, 形成止血栓子, 从而促进凝血。

③黄腐酸可能促进血小板的释放反应, 血小板为一种多功能细胞, 它参与许多重要的生理和病理过程⁽⁶⁾, 当血小板受到某种激活剂的刺激时, 其致密颗粒及溶酶体颗粒的内容物可释放到细胞周围环境中, 前者内容物的释放又可刺激其它血小板聚集, 使血小板聚集物增多, 血栓增大, 后者的主要生物学效应是通过纤维蛋白质和抗肝素因子促进凝血。

④黄腐酸可能有抑制腺苷酸环化酶(AC)和激活磷酸二酯酶(PDE)的作用, 从而降低血小板内环磷腺苷CAMP的含量⁽⁷⁾, 导致血小板凝集, 促使血凝。

参 考 文 献

- (1) 郑平, 腐植酸化学学术讨论会论文集, 1979, P.1.
- (2) Rebeck, J. W. in *The Circulating Platelet*, (John, S. A. ed), Academic Press, 1971, P.1.
- (3) Grawford, N. et al., *Brit. Med. Bull.*, 1977, 33, 199.
- (4) 徐淑云等, 临床药理学(上册), 1980, P. 397.
- (5) 洪明理, 生理科学进展, 1982, 13, P. 153.
- (6) Gordon, J. L. et al. in *Platelets in Biology and Pathology* (Gordon, J. L. ed), North-Holland, 1976, P. 1.
- (7) Moncada, S. et al., *Brif. Med. Bull.*, 1978, 34, P. 129.

(来源: 全国第三次腐植酸化学学术讨论会论文集, 1984: 267-271)