

口服避孕藥物—枸骨‘苦丁茶’的研究

薛彥蓉**洪我住**范炳堯*陳思義*

前 言

为了避免生育过多过密影响母子健康,计划生育及避孕藥物的研究有着极其重要的意义,近年来在党和政府号召下,卫生部門和科学工作者曾做了很多研究,取得了不少成績。目前国内外避孕方法不外乎是采用机械方法和外用藥物,虽有一定效果,但使用不便,有时甚至引起象子宫炎等付作用,因此研究更簡便而又可靠的口服避孕藥有其特殊的价值。我們根据1959年翁綱英等的研究^[1]选用經动物試驗有良好避孕效果的苦丁茶和枸骨作更深入一步的研究——动物疗效試驗,机轉探討和有效成份提取。

苦丁茶和枸骨嫩叶在江都县都称苦丁茶,經我院藥材教研組鑑定是不同的品种,苦丁茶为大叶冬青,学名 *Ilex leactifolia* Thunb 产于长江下游及浙江、福建一带。枸骨(江都,南京貨)系冬青科植物枸骨 *Ilex Corunta* lindley 的干燥叶^[2]产于浙江,安徽、湖北等省。

实 驗 部 份

供試品的制备^[3]

(1) 100%水浸出液:取生藥粗粉加十倍量水于水浴上在 70℃左右溫浸一小时,时时搅拌,过滤,残渣再加五倍量水同法提取,过滤,合併滤液,減压濃縮至相当于原生藥 100%浓度的流浸膏。

(2) 100%醇浸出液:取生藥粗粉加六倍量乙醇在水浴上迴流 2 小时,趁热过滤,残渣再加四倍量乙醇,同法提取过滤,合併滤液減压濃縮至糖浆状,再加水至相当于含原生藥 100%浓度的水混悬液。

毒性試驗:

以 50g/kg/日 剂量(約为成人剂量的六十倍)灌胃(一次灌完)小白鼠七只給藥五天均无毒性反应,說明枸骨与苦丁茶均无毒性。

疗效試驗:

选用 22g 以上已生育过 1—2 胎(受孕后与雄鼠分居),之健康小白鼠,以灌胃方式(每日

*指导教师

**1959年學度應屆畢業生

一次)給藥十天后与健康的雄鼠合籠十二天,撤去雄鼠。在合籠期間二小时檢查一次阴栓,
(阴栓为小白鼠在动情期接受交配証据)实验結果如下表:

表一 小白鼠避孕試驗結果

药 物 名 称	動物对数	剂 量	怀孕对数	抑 孕 %	备 注
苦丁茶水浸出液	12	3.6g/kg/日	0	100%	购自江都县又名大叶冬青
枸骨露浸出液	5	7.2g/kg/日	1	80%	购自南京市
枸骨水浸出液	7	7.2g/kg/日	0	100%	购自南京市
嫩枸骨叶水浸出液	16	3.6g/kg/日	3	81.3%	购自江都县又称苦丁茶
枸骨醇提出之沉淀 作成水混悬液	6	7.2g/kg/日	0	100%	供試品来源见成份分析項下
枸骨醇提出液除去 沉淀后之母液	6	3.6g/kg/日	1	83.4%	供試品来源见成分分析項下
对 照 組	4	不灌胃	4	0%	

从以上試驗說明这二种药物均有着避孕作用。

恢复生殖能力观察:

将經過避孕試驗之雌鼠一部份停药五十五天后再与雄鼠合籠,此时六对小白鼠已有恢复生育能力。

阴道涂片試驗: [4][5]

卵巢周期性功能的变化,在阴道粘膜上产生相应的细胞形态的改变,因此进行阴道涂片的检查可以間接地了解卵巢机能的情况,小白鼠之性周期为4—6天,每个性周期可分为四个阶段;各个阶段的涂片在显微镜下看到的情况各不相同。

操作方法:

用70%酒精消毒并以生理盐水浸蘸过的白金耳插入小白鼠阴道內,輕輕旋轉,然后将其分泌物涂于滴有生理盐水之载玻片上,让其自然干燥后,用0.5%龙胆紫溶液染色,五分鐘后即可进行显微镜观察。

选用体重22g以上而与雄鼠分层的健康青年母鼠按上述方法涂片检查,待周期变化规律正常后(指在二至三周期內,各时期所出現的现象和時間基本上完全一致。)即在性周期的各个不同阶段灌胃給藥十五天,在灌藥期間每隔十二小时涂片檢查一次其显微镜观察結果如下表。

小白鼠阴道涂片檢查結果

結 果			跃过動情 期只数	縮短動情 期只数	延長休息 期只数	无明显作 用只数	動物 总数	影响性 周期百 分率
給藥品种	給藥时期	剂 量						
枸骨(购自南京) 水浸出液	動情前期	3	1	1	1		14	85.7%
	動情期	2			2			
	動情后期	4			3	1		
	休息期	5			4	1		
		3.6g/kg/日						

构骨水浸出液 (南京)	动情前期	1	7.2g/kg/日	1	2	3	4	16	75%
	动情期	6							
	动情后期	3							
	休息期	6							
嫩出液 (江都县)	动情前期	2	3.6g/kg/日	1	1	1	1	10	60%
	动情期	2							
	动情后期	1							
	休息期	5							

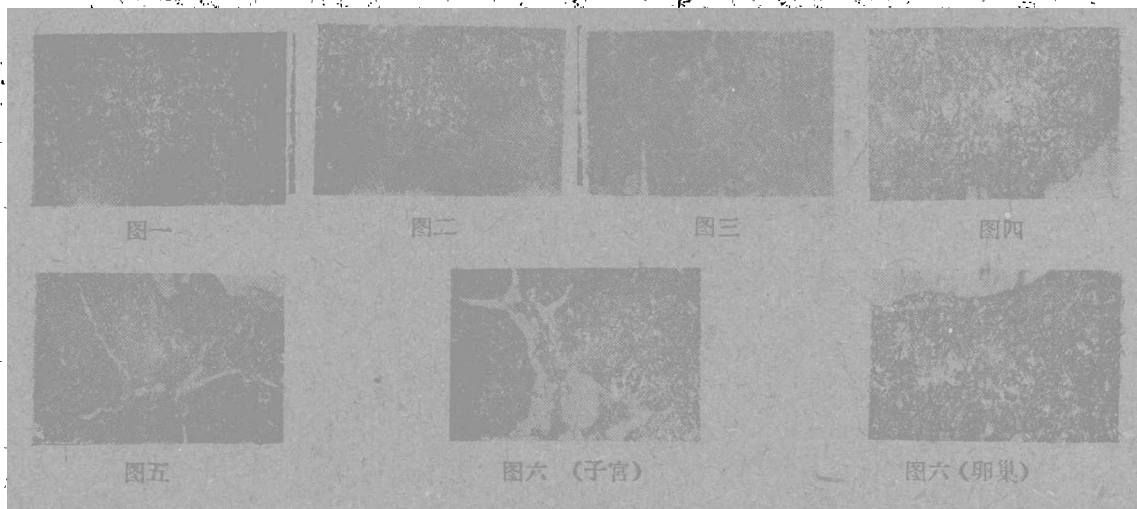
上表可知构骨(南京及江都县)能使小白鼠正常性周期发生改变主要是使休息期延长其次是跳过或缩短动情期。

小白鼠卵巢, 子宫组织切片试验[6][7][8][9]

将阴道涂片检查性周期正常之小白鼠以3.6g/kg/剂量给药(嫩出液)于第三天, 五天, 八天, 十五天, 十七天, 廿天, 六十天将小白鼠剖杀, 取出完整的子宫和卵巢立即用波英氏(Bouins)液固定。详细过程如下:

子宫或卵巢固定(12—24小时)→70%乙醇(1小时)→80%乙醇(1小时)→100%乙醇_{II}(20分钟)←100%乙醇_I(20分钟)←95%乙醇(1小时)←90%乙醇(1小时)←1/2苯(30分钟)→透明度检查→苯_I(30分钟)→苯_{II}(30分钟)→蜡_I(30分钟)切片(7—10mm²)←修整←包埋←蜡_{II}(30分钟)←蜡_{III}(30分钟)→贴片(40—50°C 1—2小时)→烘片(30—40°C 6—12小时)→二甲苯_I(15分钟)→100%乙醇_{II}(1—2分钟)←100%乙醇_I(1—2分钟)←脱蜡检查←二甲苯_{II}(15分钟)→2%火棉胶(20—30分钟)→70%乙醇(1—2分钟)→蒸馏水冲洗二次→蒸馏水冲洗一次←自来水浸(呈兰色)←苏木精染色(20—30分钟)→伊红染色(15—30分钟)→染色检查→70%乙醇(立刻)→80%乙醇(立刻)→100%乙醇_{II}(立刻)←100%乙醇_I(立刻)←95%乙醇(立刻)←90%乙醇(立刻)→二甲苯_I(30分钟)→二甲苯_{II}(30分钟)→透明度检查→加拿大树胶封固。

子宫卵巢组织切片图:



显微镜观察结果如下:

图一: 正常(对照)卵巢图内有黄体, 初级卵泡及生长卵泡。

图二: 给药八天之卵巢切片图内有生长卵泡, 闭锁卵泡。

图三: 给药十五天之卵巢切片图内有黄体, 生长卵泡, 闭锁卵泡。

图四: 给药十七天之卵巢切片图内有黄体及生长卵泡, 初级卵泡。

图五: 给药二十天之卵巢切片图内有初级卵泡, 生长卵泡闭锁卵泡。

图六: 给药六十天之卵巢切片图内有黄体初级卵泡。子宫及输卵管均正常。

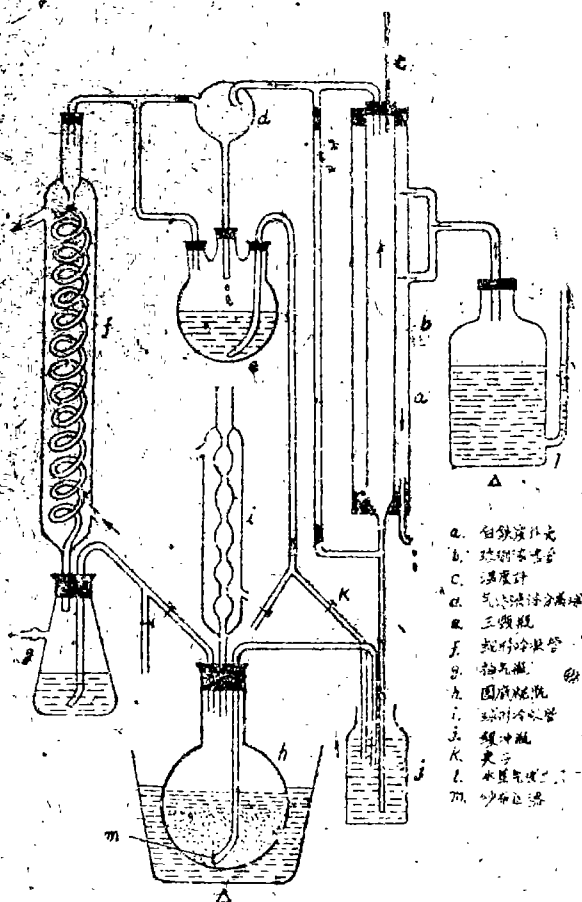
从显微观察结果所有服药后的小白鼠卵巢及服药六十天之子宫输卵管等组织结构均正常因此初步推断此药可能不影响卵泡生长及排卵。

(三) 成份提取^{[10][11][12]}

(1) 枸骨水浸出液经预试验有鞣质, 树胶质, 叶绿素, 糖类, 甙等, 没有生物硷。

(2) 在预试验基础上进行提取方法是采用提取过滤浓缩一条龙装置(附图), 将干燥的枸骨粗粉1000克, 放入5000毫升圆底烧瓶中, 用95%乙醇4000毫升, 迴流一小时半后, 提取液自动滤入缓冲瓶中, 进行薄膜减压浓缩, 浓缩液入三颈瓶中放出, 滤出沉淀, 滤液再入缓冲瓶浓缩, 蒸出的乙醇, 再入圆底烧瓶继续提取, 待缓冲瓶中浓缩完后提取液再滤入其中继续浓缩, 如此反复操作至提取完全为止, 随后即可收回溶媒。将反复浓缩过滤最后得到的滤液加水, 使沉淀完全, 滤去绿色沉淀, 得黄色母液。黄色母液减压浓缩约至原体积的五分之一时, 过滤, 滤液用乙醚提取数次, 合併醚液, 用无水硫酸钠干燥, 浓缩, 放置后, 即析出透明的针状结晶, (此结晶量较少。)

酒精提取液之绿色沉淀对斐林氏试剂呈阳性反应, α -萘酚试剂与浓硫酸交界面呈紫色环, 甘氏试剂与浓硫酸交界面呈棕色环。取此沉淀置沙氏提取器中用乙醚脱色去脂, 再以丙酮反复重结晶即得无色透明之鳞片状结晶, 其熔点为 $251-252^{\circ}\text{C}$ 。丙酮提取后之残渣用氯仿在沙氏提取器中迴流八小时, 浓缩, 再用氯仿反复重结晶后得黄棕色粉末状结晶其熔点为 $244-246^{\circ}\text{C}$ 。



附图“提取、过滤、浓缩一条龙装置图

討 論

中医对妇女所以能怀孕的問題早在內經书中就有記載曰：“二七天癸至，任脈通，太冲脈盛，月事以时下故有子”此說明了月經按时来潮和能够怀孕的原因是与冲脈旺盛有关。而冲任二脈皆起于胞中并且冲脈又称为人体之血海，故月經能按时来是由于冲脈的旺盛，內經上又曰“寒則血凝注”可知子宫受寒为避孕的原因之一，故常以暖宮法来治疗不孕症。

据文献記載^{〔13〕〔14〕}和中医論述苦丁茶和枸骨均屬苦寒藥有涼血涼子宫作用故可避孕。从小白鼠阴道涂片检查結果藥物能使小白鼠正常性周期发生改变，主要是延长休息期少数是跳过或縮短动情期这一情况与中医避孕理論基本上是符合的。

从对給药八天，十五天，十七天，廿天，六十天小白鼠的卵巢，子宫，輸卵管等的組織切片观察結果，組織结构仍是正常，并无損害亦不影响卵泡的生长、发育及排卵。又从以上避孕效果試驗，阴道涂片检查、卵巢子宫輸管等組織切片，及結合恢复生殖能力試驗，可知这些藥物是一种生理避孕而不是病理避孕。

結 論

通过对小白鼠的抑孕試驗及阴道涂片試驗，証实枸骨，苦丁茶有良好的避孕效果。由小白鼠的組織切片看到枸骨对子宫、卵巢等組織无病理变化。枸骨叶中用乙醇提得綠色粉状物有甙的反应有避孕作用，經精制后得到二种結晶，熔点为 $251-252^{\circ}\text{C}$ 及 $244-246^{\circ}\text{C}$ 。

（本工作承蒙南京第一医学院郭仁强，毕玉澄同志及本院李汉蕴，翁輓英，张 頌等同志，大力协助，在此表示感謝）。

参 考 文 献

- 〔1〕南京藥學院学报第4期（1959年）P.115.
- 〔2〕南京藥學院編藥材学 P.720.
- 〔3〕中国医学科学院实验医学研究所年刊 1958 P.200—201.
- 〔4〕薩哈洛夫，梅介金等著实验动物 9.63—65.
- 〔5〕庆祝建国十周年医学科学成就論文集（下） P.13.
- 〔6〕陈星若著：病理切片制作技术。
- 〔7〕組織胚胎学。
- 〔8〕蔣加年編著組織胚胎学图谱。
- 〔9〕健康报 1957. 4.19. 5.7.
- 〔10〕林启寿編著植物药品化学 P.490.
- 〔11〕彭司勳主編藥物化学 P.460.
- 〔12〕除七害野生植物化学成份及制剂研究方案（内部）。
- 〔13〕謝观編中国医学大辞典 P.1955.
- 〔14〕潘杏村編标准药性大辞典 P.179.