

口服避孕药物—枸骨“苦丁茶”的研究

薛彦蓉**洪我往**范炳光*陈思义*

前 言

为了避免生育过多过密影响母子健康，计划生育及避孕药物的研究有着极其重要的意义，近年来在党和政府号召下，卫生部门和科学工作者曾做了很多研究，取得了不少成绩。目前国内避孕方法不外乎是采用机械方法和外用药物，虽有一定效果，但使用不便，有时甚至引起象子宫炎等副作用，因此研究更简便而又可靠的口服避孕药有其特殊的价值。我们根据1959年翁帼英等的研究^[1]选用经动物试验有良好避孕效果的苦丁茶和枸骨作更深入一步的研究——动物疗效试验，机理探讨和有效成份提取。

苦丁茶和枸骨嫩叶在江都县都称苦丁茶，经我院药材教研组鉴定是不同的品种，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，南京货）系冬青科植物枸骨Corunna Lindley的干燥叶^[2]产于浙江、安徽、湖北等省。

实 验 部 份

供试品的制备^[3]

(1) 100%水浸出液：取生药粗粉加十倍量水于水浴上在70℃左右温浸一小时，时时搅拌，过滤，残渣再加五倍量水同法提取，过滤，合併滤液，减压浓缩至相当于原生药100%浓度的流浸膏。

(2) 100%醇浸出液：取生药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，合併滤液减压浓缩至糖浆状，再加水至相当于含原生药100%浓度的水混悬液。

毒性试验：

以50g/kg/日剂量（约为成人剂量的六十倍）灌胃（一次灌完）小白鼠七只给药五天均无毒性反应，说明枸骨与苦丁茶均无毒性。

疗效试验：

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

*指导教师

**1959年学年度应届毕业生

一次)給藥十天后与健康的雄鼠合籠十二天，撤去雄鼠。在合籠期間二小時檢查一次陰栓，(陰栓為小白鼠在動情期接受交配證據)實驗結果如下表：

表一 小白鼠避孕試驗結果

藥物名稱	動物對數	劑量	懷孕對數	抑孕%	備註
苦丁茶水浸出液	12	3.6g/kg/日	0	100%	購自江都縣又名大葉冬青
枸骨醇浸出液	5	7.2g/kg/日	1	80%	購自南京市
枸骨水浸出液	7	7.2g/kg/日	0	100%	購自南京市
嫩枸骨葉水浸出液	16	3.6g/kg/日	3	81.3%	購自江都縣又稱苦丁茶
枸骨醇提出之沉淀 作成水混悬液	6	7.2g/kg/日	0	100%	供試品來源見成份分析項下
枸骨醇提出液除去 沉淀後之母液	6	3.6g/kg/日	1	83.4%	供試品來源見成份分析項下
對照組	4	不灌胃	4	0%	

從以上試驗說明這二種藥物均有着避孕作用。

恢復生殖能力觀察：

將經過避孕試驗之雌鼠一部份停藥五十五天后再與雄鼠合籠，此時六對小白鼠已有恢復生育能力。

阴道涂片試驗：〔4〕〔5〕

卵巢周期性功能的變化，在阴道粘膜上產生相應的細胞形態的改變，因此進行阴道涂片的檢查可以間接地了解卵巢機能的情況，小白鼠之性周期為4—6天，每个性周期可分為四個階段；各個階段的涂片在顯微鏡下看到的情況各不相同。

操作方法：

用70%酒精消毒並以生理鹽水浸潤過的白金耳插入小白鼠陰道內，輕輕旋轉，然後將其分泌物涂於滴有生理盐水之載玻片上，讓其自然干燥後，用0.5%次甲藍溶液染色，五分鐘後即可進行顯微鏡觀察。

選用體重22g以上而與雄鼠分居的健康青年母鼠按上述方法涂片檢查，待周期變化規律正常後(指在二至三周期內，各時期所出現的現象和時間基本上完全一致。)即在性周期的各個不同階段灌胃給藥十五天，在灌藥期間每隔十二小時涂片檢查一次其顯微鏡觀察結果如下表。

小白鼠阴道涂片檢查結果

給藥品種	給藥時期	劑量及數量	結果		躍過動情期只數	縮短動情期只數	延長休息期只數	無明顯作用只數	動物總數	影響性周期百分率
			動情前期	動情期						
枸骨水浸出液 (購自南京)	動情前期	3	1	1	1	1	1	1	14	85.7%
	動情期	2				2				
	動情後期	4	3.6g/kg/日			3	1	1	14	85.7%
	休息期	5				4				

枸 物 水 胸 解 混 自 提 悬 南 出 液 京	動情前期 動情期 動情后期 休息期	1 6 3 6	7.2g/kg/日		1 2 1 1	2 1 1 3	1 1 1 2	16	75%
枸 物 水 胸 解 混 自 提 悬 南 出 液 京	動情前期 動情期 動情后期 休息期	2 2 1 5	3.6g/kg/日				1 1 1 3	10	60%

上表可知枸骨(南京及江都县货)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]}

将经阴道涂片检查周期正常之小白鼠以3.6g/kg剂量给药(枸骨水浸出液)于第三天、五天、八天、十五天、十七天、廿天、六十天将小白鼠剖开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—10μ)←修整←包埋←蜡Ⅱ(30分钟)→蜡Ⅲ(30分钟)←
 →贴片(40—50℃1—2小时)→烘片(30—40℃6—12小时)→二甲苯Ⅰ(15分钟)
 100%乙醇Ⅲ(1—2分钟)←100%乙醇Ⅳ(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)→集色检查→70%乙醇(立刻)→80%乙醇(立刻)
 100%乙醇Ⅳ(立刻)←100%乙醇Ⅴ(立刻)←95%乙醇(立刻)←90%乙醇(立刻)←
 →二甲苯Ⅲ(30分钟)→二甲苯Ⅳ(30分钟)→透明度检查→加拿大树胶封固。

子宫卵巢组织切片图：



顯微鏡觀察結果如下：

圖一：正常（對照）卵巢圖內有黃體，初級卵泡及生長卵泡。

圖二：給藥八天之卵巢切片圖內有生長卵泡，閉鎖卵泡。

圖三：給藥十五天之卵巢切片圖內有黃體，生長卵泡，閉鎖卵泡。

圖四：給藥十七天之卵巢切片圖內有黃體及生長卵泡，初級卵泡。

圖五：給藥二十天之卵巢切片圖內有初級卵泡，生長卵泡閉鎖卵泡。

圖六：給藥六十天之卵巢切片圖內有黃體初級卵泡。子宮及輸卵管均正常。

從顯微觀察結果所有服藥後的小白鼠卵巢及服藥六十天之子宮輸卵管等組織結構均正常因此初步推斷此藥可能不影響卵泡生長及排卵。

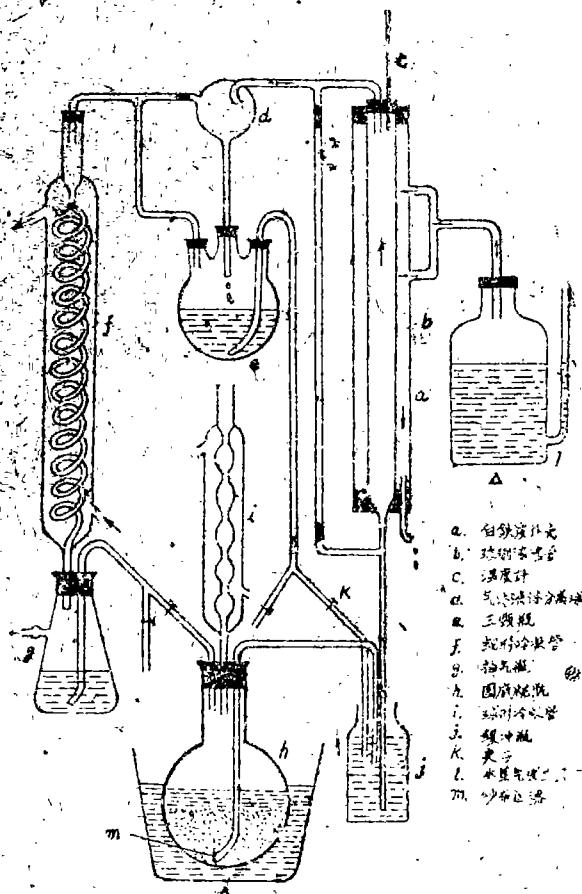
（三）成份提取^{[10][11][12]}

（1）枸骨水浸出液經預試驗有鞣質，樹膠質，葉綠素，糖類，甙等，沒有生物硷。

（2）在預試驗基礎上進行提取方法是採用提取過濾濃縮一條龍的裝置（附圖），將干燥的枸骨粗粉1000克，放入5000毫升。

圓底燒瓶中，用95%乙醇4000毫升，迴流一小時半後，提取液自動濾入緩衝瓶中，進行薄膜減壓濃縮，濃縮液入三頸瓶中放出，濾出沉淀，濾液再入緩衝瓶濃縮，蒸出的乙醇，再入圓底燒瓶繼續提取，待緩衝瓶中濃縮完後提取液再濾入其中繼續濃縮，如此反復操作至提取完全為止，隨後即可收回溶媒。將反復濃縮過濾最後得到的濾液加水，使沉淀完全，濾去綠色沉淀，得黃色母液。黃色母液減壓濃縮約至原体积的五分之一時，過濾，濾液用乙醚提取數次，合併醚液，用無水硫酸鈉干燥，濃縮，放置後，即析出透明的針狀結晶，（此結晶量較少。）

酒精提取液之綠色沉淀對斐林氏試劑呈陽性反應， α -苯酚試劑與濃硫酸交界面呈紫色環，甘氏試劑與濃硫酸交界面呈棕色環。取此沉淀置沙氏提取器中用乙醚脫色去脂，再以丙酮反復重結晶即得無色透明之鱗片狀結晶，其熔點為251—252°C。丙酮提取後之殘渣用氯仿在沙氏提取器中迴流八小時，濃縮，再用氯仿反復重結晶後得黃棕色粉末狀結晶其熔點為244—246°C。



附圖“提取、過濾、濃縮一條龍裝置圖”

討 論

中醫對妇女所以能怀孕的問題早在內經書中就有記載曰：“二七天癸至，任脈通，太沖脈盛，月事以時下故有子”此說明了月經按時來潮和能够怀孕的原因是與冲脈旺盛有關。而冲任二脈皆起于胞中並且冲脈又稱為人體之血海，故月經能按時來是由于冲脈的旺盛，內經上又曰“寒則血凝注”可知子宮受寒為避孕的原因之一；故常以燉宮法來治療不孕症。

據文獻記載〔13〕〔14〕和中醫論述苦丁茶和枸骨均屬苦寒藥有涼血涼子宮作用故可避孕。从小白鼠阴道涂片檢查結果藥物能使小白鼠正常性周期發生改變，主要是延長休息期少數是跳過或縮短動情期這一情況與中醫避孕理論基本上是符合的。

從對給藥八天，十五天，十七天，廿天，六十天小白鼠的卵巢，子宮，輸卵管等的組織切片觀察結果，組織結構仍是正常，並無損害亦不影響卵泡的生長、發育及排卵。又從以上避孕效果試驗，阴道涂片檢查、卵巢子宮輸管等組織切片，及結合恢復生殖能力試驗，可知這些藥物是一種生理避孕而不是病理避孕。

結 論

通過對小白鼠的避孕試驗及阴道涂片試驗，証實枸骨，苦丁茶有良好的避孕效果。由小白鼠的組織切片看到枸骨對子宮、卵巢等組織無病變變化。枸骨葉中用乙醇提得綠色粉狀物有試的反應有避孕作用，經精制後得到二種結晶，熔點為 $251-252^{\circ}\text{C}$ 及 $244-246^{\circ}\text{C}$ 。

（本工作承蒙南京第一医学院郭仁強，畢玉澄同志及本院李汝蘊，翁繼英，張頌等同志，大力協助，在此表示感謝）。

參 考 文 獻

- 〔1〕南京药学院学报第4期（1959年）P.115.
- 〔2〕南京药学院編藥材学 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，海介金等著實驗動物 9.63—65.
- 〔5〕慶祝建國十周年医学科学成就論文集（下） P.18.
- 〔6〕陳星若著：病理切片制作技术。
- 〔7〕組織胚胎學。
- 〔8〕蔣加年編著組織胚胎學圖譜。
- 〔9〕健康報 1957. 4.19. 5.7.
- 〔10〕林啟春編著植物药品化学 P.490.
- 〔11〕彭司勳主編藥物化學 P.460.
- 〔12〕除七害野生植物化学成份及制剂研究方案（內部）
- 〔13〕謝觀編中國医学大辭典 P.1955.
- 〔14〕潘杏村編標準藥性大辭典 P.179.