

蓖麻提取物对鼠抗生育作用的实验研究

秦晓娜, 甘明哲, 高平*

(四川大学生物资源与生态环境教育部重点实验室, 成都 610064)

摘要: 利用蓖麻提取物对昆明种小鼠进行了短期与长期的抗生育实验, 研究发现蓖麻提取物(蓖麻油和蓖麻蛋白)对小鼠有明显的抗生育作用。蓖麻蛋白及其与蓖麻油的混合物在抗早孕方面的效果均可达到 100%, 蓖麻油抗着床的效果也可达到 100%。蓖麻油长期抗鼠生育效果明显, 在 210 d (正常小鼠的妊娠期是 21~23 d) 内有效降低小鼠生育代数与产仔数, 生育抑制率达 80% 以上。蓖麻提取物对离体小鼠子宫的影响也非常显著, 通过增强小鼠子宫内部收缩有效减少着床机率。在中止妊娠的实验中发现, 服用了蓖麻蛋白及其与蓖麻油的混合物的小鼠子宫内没有着床位点。

关键词: 蓖麻油; 蓖麻蛋白; 抗早孕; 抗着床; 中止妊娠

中图分类号: Q492 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7083(2006)01-0176-04

Effects of Castor Bean Extract on Antifertility in Mice

QIN Xiao-na, GAN Ming-zhe, GAO Ping*

(Key Laboratory of Biotic Resources and Ecological Environment, Ministry of Education, Sichuan University, Chengdu 610064)

Abstract: Antifertility experiments have been made on mice for short-term and long-term observation with castor bean extract and ricin, and which showed apparent effects of antifertility. Ricin and the mixture of ricin and castor bean extract respectively showed 100% antiearly pregnancy, while castor bean extract showed 100% anti-implantation. In the field of long-term antifertility, castor bean extract is of good effect which decreased mice's production and generations within 210 d (mice's normal gestation period is 21~23d). Besides, significant effects are found in mice's isolated uterus with castor bean extract and ricin, which decreased the probability of nidation in the way of strengthening the contraction in uterus. In the experiment of fetation interception, no nidation site was found after the administration of ricin and the mixture of ricin and castor bean extract.

Key words: castor bean extract; ricin; antiearly pregnancy; anti-implantation; fetation interception

目前, 许多国家利用蓖麻作为泻药、催吐剂以及抗麻风病和梅毒的药物^[1~3]。同时, 也有国家报道蓖麻籽具有抗生育的作用^[1~3]。在印度、朝鲜、约旦等国家, 妇女们常常服用蓖麻籽来避孕。在埃及, 有报道称一粒蓖麻籽可以阻止妊娠期长达 9 个月以上^[2]。由此可见, 研究蓖麻并将其开发作为一种天然抗生育药剂是极有可能的。我国是世界上蓖麻籽富产国, 产量仅次于巴西和印度, 位于世界第三位, 该研究结果将有利于蓖麻自然资源的利用与开发。因此, 我们对蓖麻蛋白和蓖麻油在小鼠抗早孕、抗着床以及长期抗生育的作用进行了相关的研究。

1 材料与方 法

1.1 实验动物

成年雌性昆明种小鼠(四川大学实验动物中心提供), 体重 25~30 g, 自然采光, 饲料喂食量为每天每只 15~20 g, 自来水每天每只 30~40 ml。

1.2 材料的处理方法

实验蓖麻购于成都五块石中药材市场。蓖麻籽椭圆形, 百粒重 35~45 g, 种壳表皮为光滑的红棕色网纹状, 购回后避光保存。

蓖麻油的提取方法^[4]: 将蓖麻籽小心去壳, 称取去壳后的蓖麻籽 300 g, 用粉碎机打碎。在打碎的蓖麻籽中加入 95% 乙醇 450 ml, 在 50℃ 水浴中搅拌 75 h。在 0℃ 的离心机中以 10000 rpm 的速度离心 30 min。保留上清液准备进一步提取, 称得沉淀重量为 105.0 ± 1.5 g, 由此可以计算出提取率为 64.73%。将乙醇提取后的液体先浓缩除去乙醇, 再加入等体积的乙醚, 在 60℃ 的水浴中搅拌

收稿日期: 2005-04-20 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30370941)

作者简介: 秦晓娜(1981~), 女, 硕士研究生; 研究方向: 天然产物; E-mail: lemongaohan@163.com

*联系作者, Gaoping99@hotmail.com

24 h。浓缩除去乙醚（回收），得浸膏 I。

蓖麻粗蛋白的提取方法^[1]：用粉碎机打碎小心去壳后的蓖麻籽 360 g（未去壳时为 500 g），加入石油醚 750 ml，经搅拌均匀，在 4℃ 下静置过夜，在 5000 rpm 的转速下离心 30 min，保留沉淀物。在经石油醚脱脂的蓖麻籽中加入 1000 ml pH7.2 的磷酸缓冲液，混合液呈悬浮液状，悬浮液在 4℃ 下经充分搅拌，于 0℃，10000 rpm 的转速下离心 30 min，取出上清液，上清液即为蓖麻粗蛋白，将之分成小份保存在 2℃ 的冰箱中。利用紫外分光吸收法^[6]测定出此蓖麻粗蛋白溶液中的蛋白浓度为 12.814 mg/ml。

1.3 实验方法

1.3.1 蓖麻油对小鼠的抗生育作用

①蓖麻油对小鼠抗早孕的作用^[1,5,7,9,10]：将有 3 个以上连续生理周期的小鼠以雌雄 2:1 合笼，在次日清晨做阴道涂片，看到精子为 d1 天，在 d5~d9 天中连续每天灌胃一次，在 d10 天解剖，称量并用组织固定液保存小鼠主要器官（子宫、卵巢、脾脏、肾上腺、胸腺）。按照《蓖麻籽抗生育作用的毒理及临床研究》（左凤）^[9]，由于避孕妇女的口服剂量为 2.5~2.9 g，所以 25±3 g 小鼠用药量为 0.260 g/kg^[10]，实验采用了 0.26 g/kg 和 0.52 g/kg 两个剂量，对照组喂食等剂量的食用油。实验分组为每组 8 只雌性小鼠。

②蓖麻油对小鼠抗着床的作用^[1,5,7,9,10]：将有 3 个以上连续生理周期的小鼠以雌雄 2:1 合笼，在次日清晨做阴道涂片，看到精子为 d1 天，在 d1~d6 天中每天连续灌胃一次，在 d10 天解剖。喂药的剂量、方法和解剖后的处理与抗早孕的实验方法相同。

1.3.2 蓖麻蛋白对小鼠的抗生育作用^[1,5,7,9,10]

蓖麻蛋白对小鼠抗生育的研究也分为抗着床和抗早孕，方法与蓖麻油的方法相同。在喂药剂量方面，实验采取了 4 μg/kg、8 μg/kg、16 μg/kg 3 个剂量。

1.3.3 蓖麻油和蓖麻蛋白的混合物对小鼠抗生育的作用^[1,5,7,9,10]

蓖麻油和蓖麻蛋白的混合物对小鼠抗生育的研究也分为抗着床和抗早孕，方法与蓖麻油的方法相同。在喂药剂量方面，实验采取了蓖麻油 0.260 g/kg 和 0.520 g/kg 两个剂量，蛋白为 16 μg/kg。

1.3.4 蓖麻油和蓖麻蛋白以及它们的混合物对小鼠终止妊娠的作用^[12]

受孕小鼠 24 只（孕期 6~

10d），分为 3 组，每组 8 只，在乙醚浅麻醉下，仔细分离出两侧子宫角，从一侧近输卵管的宫角缓缓注入药物，在另一侧子宫角注入 0.2 ml 生理盐水做对照。一周（7 d）后解剖检测小鼠的怀孕率。药物摄入量分别为：油组 0.52 g/kg；蛋白组 16 μg/kg；混合组油 0.52 g/kg 和蛋白 16 μg/kg。

1.3.5 蓖麻油和蓖麻蛋白以及它们的混合物对离体小鼠子宫的影响^[13,14,15] 将性成熟的昆明小鼠种雌性小鼠，于实验前 24 h 腹腔注射乙烯雌酚，按常规制备离体子宫标本，置于 50 ml 改良台氏液的溶槽中，持续通入 95% O₂ 和 5% 的 CO₂ 气体恒温 37±1℃，稳定 30 min，调节张力在 0.8 g 左右，于生理仪上记录子宫的肌肉收缩活动，30 min 后分别给予药物（蓖麻油、蓖麻蛋白以及它们的混合物），记录给药后子宫活动情况。

1.3.6 蓖麻油和蓖麻蛋白以及它们的混合物对小鼠长期抗生育的作用^[5,7,9,10] 连续 2 d 分别给小鼠喂食蓖麻油和蓖麻蛋白以及它们的混合物，第 3 天将小鼠合笼，之后观察小鼠各方面的生理情况和产仔情况，包括喂药后的进食量、死亡情况、妊娠周期、产仔个数、产仔代数等。药品摄入量分别是：蓖麻油组 24 mg/kg、44 mg/kg、64 mg/kg、128 mg/kg 和 325 mg/kg；蛋白组 8 μg/kg，16 μg/kg；混合物组蓖麻油 325 mg/kg 和蛋白 16 μg/kg。

2 实验结果

2.1 抗生育实验

由表 1 和表 2 可以看出，实验给药量对小鼠没有致死性的损伤，给药后的小鼠表现出很少的副作用，如体重增长量低于对照组、便秘。在抗早孕方面，蓖麻蛋白和混合药物均体现出良好的效果，子宫内着床位点明显减少，生育抑制率达到 100%，而蓖麻油的生育抑制率也可达到 80% 以上。在抗着床方面，蓖麻油和混合物的生育抑制率分别是 100% 和 85% 以上。

在长期抗生育实验中发现，蓖麻油可以在 210 d（正常小鼠的妊娠周期为 21~23 d）内有效地降低小鼠产仔的代数与产仔数，剂量 325 mg/kg 时的生育抑制率可达 80% 以上。蓖麻蛋白的给药量在 16 μg/kg 时生育抑制率为 75%~80%，而蓖麻蛋白及其与蓖麻油的混合物也可以在 210 d 内有效地控制小鼠的生育数量。

2.2 蓖麻油和蓖麻蛋白以及它们的混合物对离体

小鼠子宫的影响

在给予蓖麻油和蓖麻蛋白以及它们的混合物后，小鼠子宫均呈兴奋效应，且有强直收缩的现象，其收缩强度为：蓖麻蛋白>蓖麻油与蓖麻蛋白的混合物>蓖麻油。收缩强度均可以持续，持续时

间在 30 min 到 2 h 之间，其中在蓖麻蛋白与蓖麻油的混合物作用下收缩持续的时间最长。在药物被洗脱后，子宫均可在 30 min 内恢复原有的收缩状态。

表 1 蓖麻蛋白对小鼠抗早孕与抗着床效果比较

实验指标	Pr 抗早孕组				Pr 抗着床组		
	4 μg/kg	8 μg/kg	16 μg/kg	对照	4 μg/kg	16 μg/kg	对照
实验前/后小鼠数 (只)	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/7	8/6
实验前后体重增减 (%)	+11.21	+1.70	+0.42	+19.38	+11.06*	-10.72	-2.11
平均胎儿个数 (个)	0*	0*	0	8.25	1.75	2.00	9.33
怀孕率	0/8	0/8	0/8	7/8	2/8	3/8	6/8
生育抑制率 (%)	100	100	100	-	66.67	71.43	-

注 (表 2 同): (1) 各组数据与对照组比较, 行 F 检验, * : P<0.05, ** P<0.01

(2) 生育抑制率 (%) = $\frac{\text{对照组怀孕率} - \text{给药组怀孕率}}{\text{对照组怀孕率}} \times 100$ (其中小鼠的怀孕率为实验中发现了着床点的小鼠数目与总的实验小鼠数目的比)

表 2 蓖麻油及蓖麻油与蓖麻蛋白的混合物对小鼠抗早孕与抗着床效果比较

实验指标	油抗早孕组			油抗着床组		混合抗着床组		混合抗早孕组		
	油 1 组	油 2 组	对照	油组	对照	混合组	对照	混 1 组	混 2 组	对照
实验前/后小鼠数 (只)	8/6	8/6	8/6	8/6	8/8	8/7	8/8	8/6	8/6	8/8
实验前后体重改变 (%)	+9.98*	+2.08*	+34.73	+7.50	+5.61	+5.28	+11.71	-9.18	4.12	+2.43
胎儿个数 (个)	1.33**	1.50**	10.67	1.67*	7.75	0*	6.50	0	1.17*	6.63
怀孕率	1/6	1/6	6/6	1/6	7/8	0/7	6/8	0/6	1/6	7/8
生育抑制率 (%)	83.3	83.3	-	85.71	-	100	-	100	85.71	-

2.3 蓖麻油和蓖麻蛋白以及它们的混合物对小鼠终止妊娠的作用 (表 3)

一周 (7 d) 后的解剖结果表明, 对照组与给

药组小鼠的子宫段的平均着床数存在着明显差异, 其中蓖麻蛋白组和蓖麻油与蓖麻蛋白的混合物组的妊娠中止率达到了 100%。

表 3 蓖麻油和蓖麻蛋白以及它们的混合物对小鼠终止妊娠的作用

实验指标	手术前后小鼠数 (前/后)	对照组小鼠子宫段的着床率 (%)	给药组小鼠的子宫段的着床率 (%)	给药组与对照组小鼠的子宫段的平均着床数比例	妊娠中止率 (%)
油组	8/5	100	20	2/4.8	80
Pr 组	8/6	83.3	0	0/6.4	100
混合组	8/6	100	0	0/5.67	100

3 讨论

鼠类抗生育药剂是一种以降低各种鼠出生率为目标的药剂, 它包括避孕剂、杀精剂、杀卵剂、杀胎剂, 确切的说, 是通过生殖生理起作用, 致使单性或双性永久不育或短时不育, 从而减少后代数量, 或降低子代生殖能力的药物^[16,17]。目前的抗生育药剂分为化学不育剂、植物源不育剂、生物不育剂等。随着人类对环境保护的重视及化学农药开

发难度的加大, 植物源不育剂成了当今不育剂开发新热点。蓖麻蛋白和蓖麻油由于是从植物中直接提取出来的, 可以自然分解, 对环境污染小, 故用蓖麻蛋白和蓖麻油作为不育剂或以它们作为先导化合物开发生物不育剂正受到广泛重视。

我们的研究表明, 蓖麻蛋白、蓖麻油以及它们的混合物在短期和长期的范围内均可有效降低小鼠的产量和代数。为了实现蓖麻抗生育药剂的推广应

BALB/c 小鼠繁殖性能的观察及分析

张俭, 黄星群, 刘建军

(怀化学院生物系, 湖南怀化 418008)

摘要: 为提高 BALB/c 小鼠受孕率, 对其生殖性能进行了研究。结果表明: 性周期动情期的鉴定是提高小鼠受孕率的关键。光照、温度、噪音及湿度等因素对小鼠性周期影响很大。自然交配的受精卵质量远比超数排卵的好, 但超数排卵仍不失为一种良好的获得更多卵子的辅助办法。

关键词: 性周期; 阴栓; 预接触; 超数排卵

中图分类号: Q95-33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7083 (2006) 01-0179-03

Observation and Analysis on Productive Capacity of BALB/c Mouse

ZHANG Jian, HUANG Xing-qun, LIU Jian-jun

(Biology Department, Huaihua University, Huaihua, Hunan Province 418008)

Abstract: To improve the rate of fertilization, the productive capacity of BALB/c mouse was studied and the results showed that it was important to characterize the estrus among sexual cycles. The mice sexual cycles were influenced remarkably by light, temperature, noise and air humidity. The quality of zygote obtained by natural mating was rather better than that by superovulation, while superovulation was still an effective auxiliary method to get more ova.

Key words: sexual cycle; vaginal plug; pre-contact; superovulation

以 BALB/c 小鼠为实验材料, 通过对 BALB/c 小鼠进行生殖系统解剖学及阴道涂片细胞学检查, 研究了小鼠性周期各个时期的特征。

收稿日期: 2005-03-24 基金项目: 怀化学院 2003 科研基金项目 (03002)

作者简介: 张俭 (1967-), 男, 硕士, 怀化学院讲师, 从事细胞生物学教学与研究, E-mail: hhzhangjian@163.com

用, 还需要对其它鼠类如豚鼠、褐家鼠、高山姬鼠、黑腹绒鼠等进行相关实验, 此外在药物适口性上也需做进一步的研究。

4 参考文献

- [1] AS Salhab, MS Shomaf, MN Gharaibeh, *et al.* Effect of castor bean extract and ricin A-Chain on ovulation and implanation in rabbits [J]. *Contraception*, 1999, 59: 395~399
- [2] Abdulazim S Salhab, Salah O Al-Tamimi, Munir N Gharaibehand Maha, *et al.* The abortifacient effects of castor bean extract and ricin-A chain in rabbits [J]. *Contraception*, 1998, 58: 193~197.
- [3] ZHANG Chun-mei, WANG Rui-hong. Advance in the research of sterilants against rodents [J]. *J Forestry Research*, 2002, 13 (1): 77~81.
- [4] FK Okwuasaba, UA Osunkwo, MM Ekwenchi, *et al.* Anticonceptive and estrogenic effects of a seed extract of *Ricinus var. minor* [J]. *J Ethnopharmacology*, 1991, 34 (2): 141~145
- [5] CO Isichei, SC Das, OO Ogunkeye, *et al.* Preliminary clinical investigation of the contraceptive efficacy and chemical pathological effects of RICOM-1013-J of *Ricinus communis var Minor* on women volunteers [J]. *Phytotherapy Research*, 2000, 14: 40~42.
- [6] 张龙翔, 张庭芳, 李令媛. 生化实验方法和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 1985: 166.
- [7] 张瑜, 马裕袖, 赵福民, 等. 避孕药酒抗生育作用机理的实验研究[J]. 河南中医, 1994, 14 (3): 145~146.
- [8] Salhab AS. Induction of mid-term abortion by ricin A-chain in mice [J]. *Int J Pharmacogn*, 1996, 34: 151~153.
- [9] 左风. 蓖麻籽抗生育作用的毒理及临床研究[J]. 国外医学中医中药分册, 2001, 23 (5): 286~287.
- [10] 罗满林, 顾为望. 实验动物学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 274.
- [11] Salhab AS, Issa A, Alhougog I. On the contraceptive effect of castor beans [J]. *Int J Pharmacogn*, 1997, 35: 63~65.
- [12] 郑妍. 昆丽抗生育作用实验研究[J]. 时珍国医国药, 1999, 10 (10): 729~730.
- [13] 江燕, 赵翠兰, 李开源, 等. 扶桑花提取物的抗早孕作用研究[J]. 中国民族民间医药杂志, 2001, 51: 226~227.
- [14] 朱红梅, 钟鸣, 韦玉伍, 等. 岗松根抗生育作用的实验观察[J]. 医学理论与实践, 1995, 8 (4): 145~146.
- [15] 朱四军, 庄临之, 谢表明, 等. 米非司酮对离体大鼠垂体细胞促黄体激素分泌的影响及其机制[J]. 动物学报, 2001, 47 (4): 412~418.
- [16] 曾佑炜, 宋光泉, 彭永宏, 等. 蓖麻毒蛋白研究及应用进展(综述) [J]. 亚热带植物科学, 2004, 33 (1): 60~63.
- [17] Scarpa A, Guerci A. Various uses of castor oil plant *Ricinus communis* [J]. *A review Journal of Ethnopharmacology*, 1982, 5: 117~137.