

# 妊娠期及授乳期母鼠投與臺灣金線連水粗萃取物對新生兒的影響

林文川<sup>1</sup> 施純青<sup>2</sup> 吳岳文<sup>1</sup>

中國醫藥學院<sup>1</sup>藥理學科；<sup>2</sup>中國藥學研究所

台中

(1999年9月16日受理，1999年10月13日收訂校稿，1999年10月21日接受刊載)

簡題：臺灣金線連對大鼠新生兒的影響

聯絡人：林文川

台中市學士路91號 中國醫藥學院藥理學科

TEL: (04) 2053366 Ext. 8306

FAX: (04) 2053764

母鼠從妊娠第 7 天至產後第 28 天，每天投與臺灣金線連水粗提取物 0.5 g/kg、2.0 g/kg 及飲水。得到下列結果：1) 臺灣金線連水粗提取物對母鼠的體重、攝食量沒有影響。2) 臺灣金線連水粗提取物對母鼠的分娩、及新生兒的死產數、活產數、出生指數沒有影響。3) 臺灣金線連水粗提取物對產後 4 天新生兒的生存指數、及離乳指數沒有影響。4) 臺灣金線連水粗提取物對新生兒的體重增加、攝食量沒有影響。5) 臺灣金線連水粗提取物對新生兒的自發運動量、學習能力沒有影響。6) 目測觀察外型臺灣金線連水粗提取物沒有致畸胎作用。以上結果顯示臺灣金線連水粗提取物在 2.0 g/kg/day 的劑量對母鼠、胎兒、新生兒沒有影響。

關鍵詞：臺灣金線連，生殖試驗。

## 前 言

臺灣金線連 (*Anoectochilus formosanus* Hayata) 為蘭科 (Orchidaceae) 金線連屬 (*Anoectochilus* Blume) 多年生草本植物，在臺灣主要分佈於環繞中央山脈整個廣大中高海拔之闊葉森林內<sup>1</sup>。

臺灣金線連為臺灣極為名貴之民間藥材，全草供為滋養強壯劑，有清涼退火、涼血固肺、祛傷解鬱、及開中氣之功效，主治肺病、高血壓、蛇傷、腎虧、小兒發育不良<sup>2</sup>。

有關臺灣金線連生理活性之研究極為缺乏，少數論文提到臺灣金線連具有抗發炎<sup>3</sup>、保肝<sup>3</sup>、抑制血小板中前列凝素合成和促進動脈內皮組織中前列環素產生<sup>4</sup>、降血糖及降血脂作用<sup>5</sup>。在成分研究方面，日本人分離出具有降血糖及血脂作用的化合物 3-glucosyloxy-4-hydroxybutyric acid 等四個<sup>5</sup>。

目前野生臺灣金線連採收不易，市場上的臺灣金線連大都為人工栽培。我們曾進行人工栽培臺灣金線連水粗萃取物的安全性評估，發現雌性大鼠高劑量連續投與臺灣金線連水粗萃取物十三週，導致子宮重量減輕，腦下垂體重量明顯增加<sup>6</sup>，子宮與腦下垂體分泌的激素與生殖能力有關，因此本研就進一步進行臺灣金線連水粗萃取物的生殖毒性試驗。

生殖毒性試驗包括一般生殖毒性試驗、致畸胎試驗、周產期和授乳期毒性試驗<sup>7</sup>。一般生殖毒性試驗是在動物交配前給藥，探討藥物對受胎能力的影響。致畸胎試驗是在受孕後的器官形成期給藥，檢測藥物是否具有胚胎毒性和致畸性。周產期和授乳期毒性試驗是在胎兒後期及授乳期間給藥，探討藥物對胎兒後期、分娩、哺乳、新生兒存活及生長發育有無影響。

如上述，臺灣金線連水粗萃取物明顯影響到雌性大鼠的子宮及腦下垂體重量，本實驗參照 Kai 等人的方法<sup>8</sup>，合併妊娠期、授乳期的研究。於大鼠妊娠期間及授乳期間連續投與臺灣金線連水粗萃取物，探討其對大鼠新生兒的影響。

## 材料與方法

### 一、臺灣金線連水粗萃取物製備方法

所使用之臺灣金線連約一年生，於 1998 年八月間購自埔理蓮園栽培場，並經本校中國藥學研究所生藥學組鑑定，標本也存放於該所。鮮品每 10 公斤加 200 公升的水煎煮四小時，二次，煎煮液過濾後，在 60<sup>0</sup>C 下經減壓濃縮至濃度 280 mg/ml，而後存放於-20<sup>0</sup>C 備用。煎煮濃縮委由世華天然食品股份有限公司辦理，抽出率為 3 %。臨用時，以大鼠體重每 100 公克投與 1 ml 為準，將濃縮液稀釋至適當濃度使用。

### 二、動物

使用 SD 大鼠，購自國科會動物中心。交配時雌、雄大鼠體重分別約為 270 公克及 400 公克。飼養室溫度控制在 25<sup>0</sup>C，明、暗各十二小時的環境。使用福壽牌大鼠飼料，飲水經過逆滲透處理。

雌雄大鼠一對一任意配對，同居一晚，第二天早上確認有精栓後，做陰道抹片檢查，確定有精子存在後視為妊娠第 0 天。

### 三、藥物投與

每組妊娠大鼠 8 -14 隻，於妊娠第 7 天開始經口投與臺灣金線連水粗萃取物，一天一次，直至分娩後 28 天為止。使用劑量為 0.5 g/kg、2.0 g/kg 及飲水。妊娠期間投與的量以妊娠第 0 天的體重為依據，哺乳期間投與的量以產後第 0 天的體重為依據。

#### 四、觀察及檢查項目

##### (一)、母鼠 (F<sub>0</sub>) 症狀觀察及體重、攝食量稱重

藥物投與期間每日觀察母鼠症狀。妊娠期間妊娠第 0、3、6、9、13、16、20 天，及哺乳期間的第 0、6、10、14、18、22、26 天測定體重。妊娠期間妊娠第 2、5、9、13、16、20 天，及哺乳期間的第、2、6、10、14、18 天測定攝食量。

##### (二)、母鼠 (F<sub>0</sub>) 的自然分娩狀況、哺育能力觀察及哺育期間終了剖檢

妊娠動物全部自然分娩，算出妊娠期間及妊娠指數 (Gestation index)。 妊娠指數 = 生產母鼠 / 妊娠母鼠 X 100。計數出生時死產兒數、生存兒數，死產兒摘出肺臟依其飄浮於水面或沉入水中判定其是否生後死亡。觀察生存兒外表有無畸形。新生兒以出生日為生後 0 日，於生後第 4 天調整每隻母鼠哺育雌雄各 4 隻兒鼠直至離乳(生後 28 天)，哺乳期間觀察兒鼠育成狀況。計算生後 4 天的存活指數 (Viability index) 及 28 天後的離乳指數(Weaning index)，存活指數 = 生後 4 天的生兒數 / 出產生兒數 X 100，離乳指數 = 離乳兒數 / 生後 4 日調整後的生兒數 X 100。 離乳時，母鼠以乙醚麻醉至死，檢視子宮的著床數，算出出生指數 (Birth index)，出生指數 = 出產生兒數 / 著床數 X 100。母鼠犧牲時同時取出腦下垂體稱重。

##### (三)、新生兒 (F<sub>1</sub>) 的體重及攝食量測定

新生兒體重於生後每週測定一次，直至 7 週齡止。攝食量於離乳後每週測定一次，直至 7 週齡止。

##### (四)、新生兒 (F<sub>1</sub>) 自發運動量測定

隨意選擇每組雌雄新生兒各 10 隻，於 6 週齡時以動物行動解析裝置(Columbus; Opto videomex-one; USA)，記錄每隻育成兒 30 分鐘內水平運動量及垂直運動量。

##### (五)、新生兒 (F<sub>1</sub>) 被動迴避試驗

隨意選擇每組雌雄育成兒各 10 隻，於 5 週齡時以被動迴避反應測定裝置 (Muromachi Kikai; Japan) 檢討新生兒的學習能力。

## 五、統計方法

妊娠指數、存活指數、離乳指數及出生指數以  $\chi^2$  檢定，比較藥物投與組與對照組之間的差異。其他以外所得之數據，均以單尾變異數分析(one-way analysis of variance)，並進行 Dunnet 測試，以 P 值小於 0.05 認為有顯著差異。

## 結果與討論

栽培的臺灣金線連價格昂貴，鮮品市價一斤(600 公克)約 3000 元左右，而水抽出率才百分之三，限於經費，僅能使用兩種劑量。臺灣金線連水粗萃取物 0.5 g/kg 及 2.0 g/kg 分別相當於鮮品 16.7 g/kg 及 66.7 g/kg。臺灣金線連於民間的用量通常為鮮重 4 - 40 公克<sup>2</sup>。

### (一)、對母鼠 (F<sub>0</sub>) 的影響

臺灣金線連水粗萃取物投與的母鼠與對照組比，沒有明顯中毒症狀，也沒有死亡情形。妊娠期間與哺乳期間，母鼠的體重、攝食量與對照組比沒有差異(圖一)。母鼠犧牲後，比較腦下垂體重量，如表一所示，2.0 g/kg 組腦下垂體的絕對重量及相對重量明顯較對照組為重。肉眼可看到 2.0 g/kg 組子宮較萎縮。臺灣金線連水粗萃取物對腦下垂體及子宮的影響，與我們安全性評估的實驗結一致<sup>3</sup>。

### (二)、對新生兒 (F<sub>1</sub>) 的影響

對母鼠分娩的影響：臺灣金線連水粗萃取物投與的母鼠其妊娠期間、出產率及著床數與對照組比較沒有差異(表二)。

對新生兒出生狀況的影響：臺灣金線連水粗萃取物投與組的死產兒發現率、生存兒數及出生率與對照組比較沒有差異(表二)。

對新生兒生存率的影響：臺灣金線連水粗萃取物投與組的生後 4 日生存率及 28 日後離乳率與對照組比較沒有差異(表二)。

另外，生存新生兒的外表全部沒有畸型的發現。

### (三)、育成期間體重變動及攝食量

如圖二所示，臺灣金線連水粗萃取物投與組新生兒至 7 週齡的體重，及離乳後至 7 週齡的攝食量與對照組比較沒有差異。

### (四)、自發運動量

臺灣金線連水粗萃取物投與各組，新生兒 6 週齡的水平運動量及垂直運動量及總運動量(水平與垂直運動量之和) 與對照組比較沒有差異。以雄性新生兒為例 30 分鐘水平運動量對照組、0.5 g/kg 組、 2.0 g/kg 組分別為  $2572.1 \pm 372.0$ 、 $2276.7 \pm 186.3$ 、 $2735.8 \pm 413.6$ 。雄性新生兒 30 分鐘垂直運動量對照組、0.5 g/kg 組、 2.0 g/kg 組分別為  $250.8 \pm 55.3$ 、 $198.2 \pm 51.5$ 、 $166.6 \pm 21.8$ 。

### (五)、被動迴避反應試驗

臺灣金線連水粗萃取物投與組新生兒 5 週齡的被動迴避反應試驗與對照組比較沒有差異。

由以上結果，臺灣金線連水粗萃取物對妊娠母鼠體重、攝食量沒有影響，目測觀察外型發現沒有致畸胎作用，也不影響新生兒的運動量及學習能力保持。

誌 謝

本研究蒙國科會補助經費(NSC88-2317-B039-001)，特此誌謝。

## 參考資料

1. 臺灣植物誌編輯委員會，臺灣植物誌，vol 5, pp.874 - 879，1978。
2. 甘偉松，藥用植物學，國立中國醫藥研究所出版，台北，p.647，1979。
3. Lin JM, Lin CC, Chiu HF, Yang JJ, Lee SG. Evaluation of the anti-inflammatory and liver-protective effects of *Anoectochilus formosanus*, *Ganoderma lucidum* and *Gynostemma pentaphyllum* in rats. *Am J Chin Med* 21:59-69, 1993.
4. Huang DD, Law RCS, Mak OT. Effects of tissue-cultured *Anoectochilus formosanus* Hay. extracts on the arachidonate metabolism. *Bot Bull Academia Sinica* 32:113-119, 1991.
5. Takeshita T, Tago H, Nakamura M, Muraoka S, Yoshizawa T. Hypoglycemics and lipid metabolism-improving agents containing 3-glucosyloxy-4-hydroxybutyric acid or its derivatives from plant. *Jpn Kokai Tokkyo Koho JP* 7:76522, 1995.
6. 林文川、施純青、吳月文、陳臆如、張惠玲、許朝添，臺灣金線連水粗萃取物對大鼠 90 天餵食毒性作用，中醫藥雜誌，11(1):pp19-29，2000。
7. 楊行義、陳介甫，畸胎毒理學之評估，藥學雜誌 34:75-87，1993。
8. Kai S, Kohmura H, Koizumi S, Sakakura K, Ishikawa K, Kawano S, Hattori N, hisada S, Konda H, Chikazawa H, Kadota T, Takahashi N. Effects of sotalol hydrochloride, an antiarrhythmic drug, administered to pregnant and lactating rats on behavioral observations in their offspring. *Jpn Pharmacol Ther* 26:315-324, 1998.



Table 1. Weight changes of pituitary gland in F<sub>0</sub> rats treated with crude aqueous extracts of *Anoectochilus formosanus* orally during the fetal organogenetic and lactation periods.

Dose (g/kg/day)	Absolute weight (mg)	Relative weight (mg / 100 g body weight)	No. of rats
Control	14.9 ± 0.5	4.8 ± 0.1	8
0.5	15.4 ± 0.5	4.8 ± 0.1	14
2.0	17.7 ± 0.8**	5.7 ± 0.3**	14

All values are means ± S.E. \*\*p<0.01 compared with control group.

Table 2. Delivery status in F<sub>0</sub> rats treated with crude aqueous extracts of *Anoectochilus formosanus* orally during the fetal organogenetic and lactation periods, and postnatal viability in F<sub>1</sub> offspring.

Groups		Normal	A.F.E. (g/kg/day)	
			0.5g	2.0g
No. of pregnant dams		8	14	14
No. of dams with live offspring		8	14	14
Gestation index (%)		100	100	100
Gestation period	Mean ± S. E..day	22.5±0.31	22.3±0.16	22.6±0.13
No. of implants	Total	132	219	246
	Mean ± S. E.	16.5±0.76	15.6±0.65	17.6±0.44
No. of stillborn pups (%)		0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
No. of offspring born alive	Total	123	206	217
	Mean ± S. E.	15.4±0.68	14.7±0.65	15.5±0.57
Birth index (%)		93.2	94.1	88.2
No. of offspring alive on postnatal day 4		113	194	198
Viability index on postnatal day 4 (%)		91.9	94.2	91.2
No. of offspring alive immediately after culling		64	112	112
No. of live weanlings		62	107	110
Weaning index (%)		96.9	95.5	98.21
External malformations:				
No. of offspring with External malformations (%)		0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)

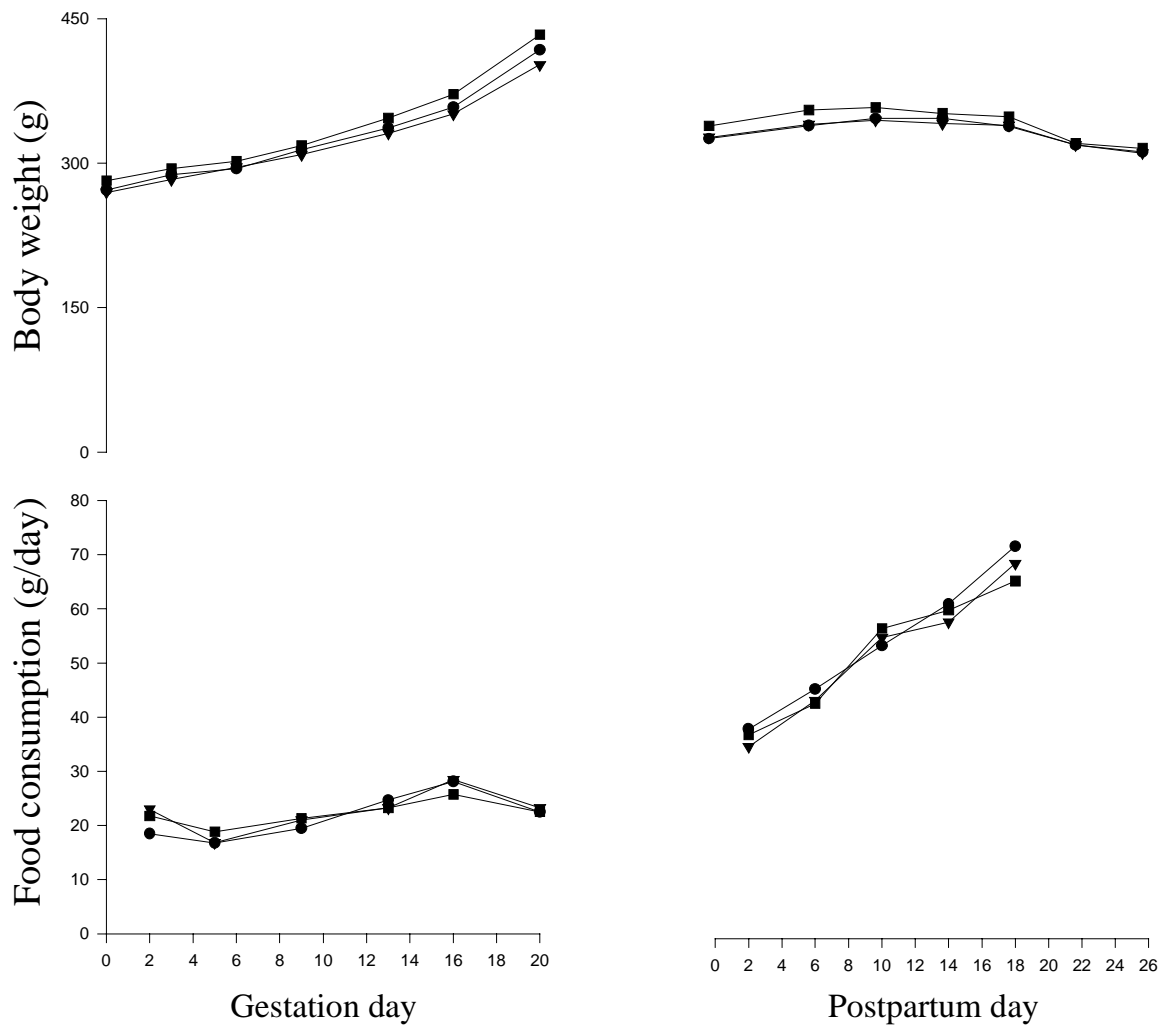


Fig. 1. Body weight changes and food consumption in pregnant and lactating  $F_0$  rats treated with crude aqueous extracts of *Anoectochilus formosanus* (AAF) orally during the fetal organogenetic and lactation periods.

● : control (n=8); ▲ : AAF: 0.5 g/kg/day (n=14); ■ : AAF 2.0 g/kg/day (n=14)

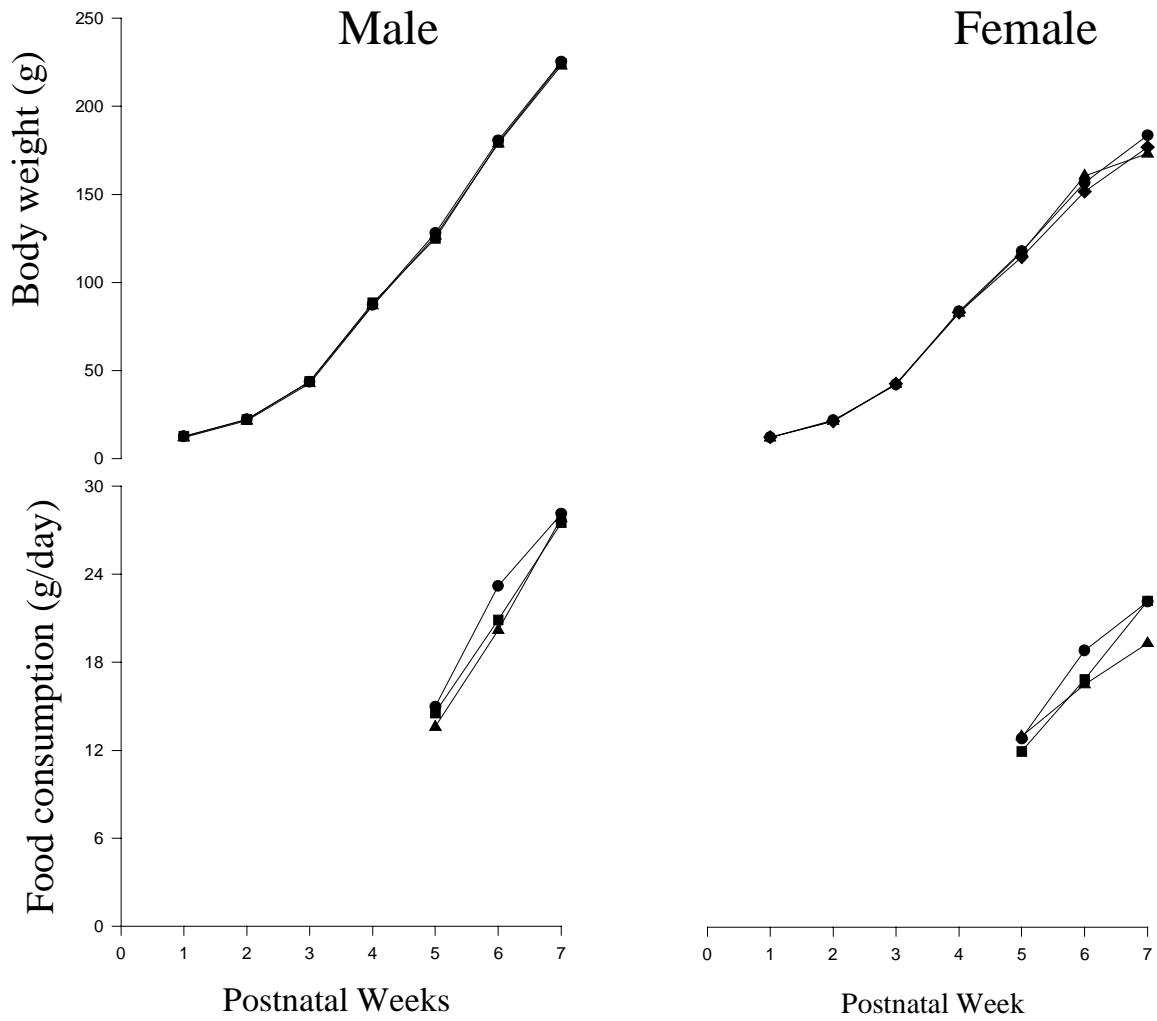


Fig. 2. Body weight changes and food consumption in male and female F1 rats delivered from F<sub>0</sub> dams treated with crude aqueous extracts of *Anoectochilus formosanus* (AAF) orally during the fetal organogenetic and lactation periods.

● : control (n=32 - 31); ▲: AFE 0.5 g/kg/day (n=56 - 53); ■ : AFE 2.0 g/kg/day (n=53 - 55)

# **EFFECTS OF CRUDE AQUEOUS EXTRACTS OF *Anoectochilus formosanus* Hayata ADMINISTERED TO PREGENANT AND LACTING RATS ON THEIR OFFSPRING**

Wen-Chuan Lin<sup>1</sup>, Chun-Ching Shih<sup>2</sup> and Yueh-Wern Wu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Department of Pharmacology*, <sup>2</sup>*Graduate Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences, China Medical College, Taichung, Taiwan*

(Received 16<sup>th</sup> September 1999, revised Ms received 13<sup>th</sup> October 1999, accepted 21<sup>th</sup> October 1999)

Crude aqueous extracts of *Anoectochilus formosanus* (AAF) was administered orally to female rats at daily dose levels of 0, 0.5 and 2.0 g/kg from day 7 of gestation to postpartum day 28. Results obtained were as follows: 1) AAF did not affect the body weight gains, food intake in F<sub>0</sub> dams. 2) Delivery status in F<sub>0</sub> dams as well as number of stillborn pups, number of live pups and birth index were not affected by AAF. 3) AAF did not affect the viability index on postnatal day 4 and weaning index in F<sub>1</sub> rats. 4) Body weight gain and food consumption were not affected in F<sub>1</sub> rats given AAF. 5) AAF did not alter learning, spontaneous motor activity in both male and female F<sub>1</sub> rats. 6) Teratogenicity of AAF could not be detected. The result indicate that no-effect dose level of AAF is 2.0 g/kg/day for dams, fetuses and offspring.

Key words: *Anoectochilus formosanus*, Reproduction study.

Correspondence to: Wen-Chuan Lin, Research Institute of Chinese Medicine, China Medical College, Taichung, Taiwan, R.O.C.  
Tel:(04)205-3366 ext 8306.