

174-177

①

# 昆明山海棠提取物 TH5 对雄性大鼠 的抗生育活性<sup>△</sup>

周激文 张宪民<sup>✓</sup> 骆毅 潘汝能  
刘黎闻 罗宁云 彭林 吴大刚

R169.41  
R979.21

**摘要** 为了开发避孕新药,作者对昆明山海棠提取物 TH5 的抗生育活性进行了研究。5 批 Wistar 成年雄性大鼠灌服 TH5(116 mg/kg)30 天后的雄性抗生育有效率平均为 97%(86/89)。停药 TH5 20 天后的大鼠附睾尾部三项精子参数统计值明显低于对照组( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ );停药 TH5 50 天后,90% 的受试大鼠恢复生育,其附睾尾部的三项精子参数值与对照组相比无显著差异( $P > 0.05$ )。TH5 对大鼠体重、睾丸重量与大小等无影响。认为 TH5 具有发展为男用避孕药的良好前景。

**关键词** 昆明山海棠 大鼠 避孕药,男用 植物提取物

Antifertility activity of TH5 in the extracts of *Tripterygium hypoglaucum* (Levl.) Hutch. in male rat

ZHOU Jiwen, ZHANG Xianming,\* LUO Yi, PAN Runeng, LIU Liwen,

LUO Ningyun, PENG Lin, WU Dagang\*

Yunnan Family Planning Institute, Kunming 650021

\* Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences

**Objective:** Study the antifertility action of TH5 fraction.

**Method:** TH5 was extracted with ethanol from the root of *Tripterygium hypoglaucum* (Levl.) Hutch.

**Results:** The mean antifertility efficiency is 97%(86/89) in five tests of adult male rats after treatment with TH5(116 mg/kg · d × 30 d). Three sperm parameters in the cauda epididymides of rats 20 days after administration of TH5 were markedly lower than those in the control rats ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). But the fertility efficiency in rats 50 days after discontinued treatment recovered 90%(38/42), and their sperm parameters were not significantly different ( $P > 0.05$ ) when compared to the controls. The body weight, the weight and volume of testis in rats of the experimental groups were not effected by TH5.

**Conclusion:** It is possible that TH5 will become a ideal medicine of male contraception due to its excellence in the potency.

**Key words:** *Tripterygium hypoglaucum* Rat Contraceptive agents, male Plant extracts

为了开发避孕新药并拓展药用植物资源,作者在过去对昆明山海棠 [*Tripterygium hypoglaucum* (Levl.) Hutch.] 男性抗生育作用的临床回顾调查及动物试验的基础上,又相继完成了 14 批雄性大鼠、11 个昆明山海棠提取物及其 14 个单体化合物共 40 个样品次的抗生育

活性筛选试验(序号 I~XIV)。在对昆明山海棠提取物 TH5 的雄性抗生育活性、化学成分及相

本课题为国家计划生育委员会和云南省科委资助项目  
作者单位:650021 昆明 云南省计划生育技术科学研究所(周激文、骆毅、潘汝能、刘黎闻、罗宁云、彭林);中国科学院昆明植物研究所(张宪民、吴大刚)

关毒理学等的深入研究中,发现它极有可能发展为一种独具特色的男用避孕药。现将 TH5 对 5 批雄性大鼠的抗生育活性试验结果报告如下。

### 材料与方 法

#### 一、材料

1. TH5 系昆明山海棠根的乙醇提取物经溶剂划分部位后所得物质,其组分介于粗提物与单体化合物之间。所有 TH5 样品皆由中国科学院昆明植物研究所植物化学室制备、提供。

2. 实验动物选用 Wistar 成年大鼠(四川省实验动物管理委员会动物质量合格证书号 No. 000186)。大鼠分笼饲养于本所动物房内(实验动物条件设施合格证书号云卫动管第 B03 号),自由进水进食(标准块料)。

#### 二、方法

1. 将雄性大鼠随机分为对照组与给药组进行抗生育活性试验。对照组大鼠每天灌服载体 1% 羧甲基纤维素钠(CMC) 1.0 ml; 给药组大鼠每天灌服 TH5(116mg/kg)及 1% CMC 1.0 ml,共 30 天。

2. 灌液 30 天后,将各组大鼠统一按 1:1 或 1:2 与成年未经交配的雌性大鼠合笼。翌日上午 8:00~10:00 对雌鼠进行阴栓与阴道涂片检查。为防止漏检,无论有无阴栓与精子,均于合笼 20 天后剖检雌鼠,统计死、活胎仔数(含着床点)及妊娠率。部分服药雄鼠经 20 天合笼试

验结束 10 天后,又以同样方法进行第二次合笼,以观察停药后的雄鼠生育恢复率。

3. 所有受试大鼠均于停药 TH5 20 或 50 天后解剖。分别对其附睾尾部的三项精子参数值(精子计数、精子活动率与活动度)进行分析<sup>[1]</sup>。同时进行睾丸称重与测量其长径(a)和横径(b),用公式  $V=1/4\pi ab^2K$  ( $K=0.9$ ) 计算睾丸容积,并取静脉血,心、肝、脾、肺、肾与肾上腺、胃、肠、睾丸和附睾等组织进行有关实验室与病理学检查。最后,对各组数值进行 *t* 检验统计学分析。

### 结 果

一、5 批 TH5(I、III、VIII、XIII、XIV)对雄性大鼠的抗生育试验

对照组雌性大鼠妊娠率为 88%(84/95); 给药组仅有 3 只雌鼠妊娠,TH5 对雄性成年大鼠的抗生育有效率平均达 97%(86/89),附睾尾部的三项精子参数统计值明显低于对照组 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )。但部分服药大鼠于停药 50 天后剖检,附睾尾部的精子参数值及雌鼠妊娠率与对照组比较无显著差异 ( $P>0.05$ ) (表 1)。

二、大鼠服用 TH5 期间及停药 20 天后每周一次的体重变化

服药大鼠的体重增长无负影响。5 批给药组大鼠的体重称重统计值与对照组相比,均无显著性差异 ( $P>0.05$ )。在各批大鼠试验期间,

表 1 昆明山海棠提取物 TH5 对雄性大鼠生育力的影响

序号	剖检时间	组 别	n	左侧附睾尾部精子参数值( $\bar{x}\pm s$ )			雌鼠妊娠率 (%)
				计数( $\times 10^6/ml$ )	活动率(%)	活动度(0~3)	
I	停药 20 天后	对照	6	94.50 $\pm$ 38.23	71.67 $\pm$ 5.54	2.83 $\pm$ 0.41	91(10/11)
		TH5	5	24.80 $\pm$ 8.81**	34.80 $\pm$ 18.54**	1.60 $\pm$ 0.55**	0(0/11)
	停药 50 天后	对照	5	63.20 $\pm$ 12.64	71.0 $\pm$ 3.32	3.0 $\pm$ 0	100(5/5)
		TH5	6	60.17 $\pm$ 7.76 $\Delta$	69.50 $\pm$ 3.78 $\Delta$	3.0 $\pm$ 0 $\Delta$	100(6/6)
XIV	停药 50 天后	对照	19	46.89 $\pm$ 7.48	74.95 $\pm$ 4.64	3.0 $\pm$ 0	90(36/40)
		TH5	18	50.50 $\pm$ 8.31 $\Delta$	72.56 $\pm$ 6.05 $\Delta$	2.89 $\pm$ 0.32 $\Delta$	89(32/36)

注:与对照组比较, $\Delta P>0.05$ ,\*\* $P<0.01$

表 2 灌服 TH5 后的大鼠睾丸称重与大小( $\bar{x} \pm s$ )

序号	剖检时间	组别	n	睾丸重量(g)		睾丸容积(ml)	
				左	右	左	右
XIII	停药 20 天后	对照	14	1.49±0.16	1.50±0.17	2.15±0.22	2.19±0.26
		TH5	16	1.48±0.13	1.45±0.10	2.26±0.54	2.04±0.33
XIV	停药 50 天后	对照	19	1.67±0.12	1.66±0.12	2.12±0.26	2.12±0.22
		TH5	18	1.70±0.13	1.66±0.12	2.06±0.13	2.01±0.18

注:TH5 组和对照组相比,均无显著差异( $P>0.05$ )

皆未见有异常反应。各服药鼠的心、肝、脾、肺、肾、肾上腺、胃、肠、附睾组织病理学检查结果,肉眼及光镜下均未见有实质性损害。而服药大鼠的睾丸组织则更少见特异形态变化,仅有几只大鼠的少许曲细精管腔内生精上皮细胞数目略有减少,生精细胞排列不整,精子发生阻滞于晚期精子细胞阶段等轻度生精障碍。

### 三、灌服 TH5 后的大鼠睾丸称重与容积测量结果

由表 2 可见,5 批试验大鼠中获得的左、右侧睾丸重量与大小统计值,无论是停药 20 天或 50 天后剖检的大鼠,经与对照组分别进行比较,皆无显著性差异( $P>0.05$ )。同时,对服药雄鼠的性行为观察表明,在合笼后的雌鼠的 1~2 轮动情周期中,对照组和给药组大鼠均有近 1/2 的雌鼠阴栓或阴道涂片精子阳性,经统计学分析,两组间也无显著性差异( $P>0.05$ )。

## 讨 论

### 一、TH5 对雄性大鼠的抗生育作用

对昆明山海棠提取物溶剂划分部位 TH5 所做的 5 批大鼠抗生育活性试验结果表明,TH5 抗生育有效率为 93%~100%,平均达 97%(86/89)。TH5 对雄性大鼠的抗生育作用,可与棉酚媲美<sup>[2]</sup>。由于棉酚可致部分男性志愿服药者产生低血钾和(或)生精功能不能恢复,所以理想的男性避孕药除有效、可复性、方便等优点外,还必须具有安全性。我们在对 5 批灌服 TH5 的大鼠进行组织病理学检查中,光镜下未发现类似棉酚对生精细胞,特别是对精原细胞的损害。但由于受试大鼠在停药 20 天或 50 天

后剖检,此时观察睾丸组织难以准确反映 TH5 的影响。为了全面阐明 TH5 的抗生育作用,避免因停药 20 天后部分睾丸组织已基本恢复正常的可能,今后,应增加一组实验动物,在停药时即剖杀观察 TH5 对睾丸组织形态及生精功能的干扰,以及附睾内精子的形态变化。至于 5 批大鼠试验中其抗生育有效率起伏不等的原由,可能与样品制备过程中的工艺改革有关。需要进一步稳定技术,完善质量控制标准,提高 TH5 部位中抗生育活性成分的富集量,以获得更为满意的效果。

### 二、TH5 雄性抗生育作用的最佳有效活性成分

作者完成了包括 TH5 在内的 11 个昆明山海棠提取物溶剂划分部位对雄性大鼠的抗生育活性筛选试验。结果,其它 10 个提取部位的抗生育效果均不如 TH5 明显。继而,从 TH5 部位中分离得到了 30 个单体化合物。经鉴定,其中有 5 个新化合物。随后,选择其中的 14 个单体化合物(余为已知不具抗生育作用或样品量不足者),用大鼠睾丸白膜下注射法进行初筛。结果编号为 THF、T8 等 4 个单体可使大鼠附睾尾部的精子计数与精子活率下降。然而,经大鼠口服法进行验证,其抗生育有效率仍不如 TH5 明显。目前,由于在对 TH5 部位中有效化学成分的研究上尚有少许结构难以破译,致昆明山海棠雄性抗生育有效活性的化学成分有待进一步确定。根据对各批次制备所得 TH5 部位的化学检测现已明确:TH5 中不含生物碱,不含甙类物质,也不含(或基本不含)雷公藤中的有效抗生育活性成分环氧二萜内酯类化合物。

TH5 与雷公藤的雄性抗生育活性提取物雷公藤多甙(GTW)、雷藤氯内酯醇(T4)及雷公藤内酯酮(T7)等单体在化学成分和结构上的差异,也许可避免后者的某些毒副作用<sup>[3-5]</sup>。加快昆明山海棠男性抗生育作用的研究和药物开发、利用,有望成为一种实用的男性避孕方法。

#### 参 考 文 献

1 周激文,骆 毅,潘汝能,等. 大鼠附睾尾部的精子参数与灌服昆明山海棠乙醇提取物后的改变及其抗生育效果观

察. 生殖医学杂志,1994,4:214.

2 薛社普,宗书东,苏树云,等. 棉酚抗生育作用的实验研究. 见:薛社普,梁德才,刘 裕主编. 男用节育药棉酚的实验研究. 北京:人民卫生出版社,1983. 2-3.

3 左晓春,王乃功. 雷藤氯内酯醇(T4)的抗生育作用机理. 中国医学科学院学报, 1995,5:387.

4 余艳华,高纪伟,徐兰芳,等. 雷公藤内酯酮的雄性抗生育活性. 中国药理学会通讯,1995,3:34.

5 刘 燕,王 伟,朱高发,等. P 物质在雷公藤引起免疫抑制中的作用. 中国医学科学院学报,1995,4:269.

(收稿:1996-08-04 修回:1997-01-23)

## WHO 为发展中国家制作的“生殖健康图书馆”

在科学技术日益发展、信息量日趋庞大的今天,发展中国家卫生工作者在日常工作中所面临的最主要的问题之一是缺少可信的、最新的、治疗方面的有效信息。

为了适应这一需求,由 WHO 牵头,与 Cochrane 合作中心,及全世界多个中心一起,为发展中国家制作了“生殖健康图书馆”。Cochrane 是 1993 年在英国牛津大学成立的一个国际网络组织。越来越多的人承认,在进行健康措施干预方面,在 Cochrane 发表的评论是一种可靠的、有据可查的信息。“生殖健康图书馆”将会选择 Cochrane 评论中的部分内容(例如,有 27 篇 Cochrane 评论收入在第一期的 WHO“生殖健康图书馆”内),并复制到一张计算机软盘上。选择内容时,将优先考虑发展中国家的需求。这个图书馆的一个特别之处在于对 Cochrane 评论上所发表的一些发生在发展中国家的现象进行了中肯地评价。这些评价都出自发展中国家或曾在那里工作、生活过的卫生工作者之手,在收入前均经过审核。

WHO 从今年开始在每年 6 月出版生殖健康图书馆计算机软盘,并将通过 WHO 或世界各地有关的机构、网络的邮寄名单,免费发送给发展中国家的卫生工作者。我们热切盼望来自使用者的评价和批评,因为这对于不断完善本计划有着非常重要的作用。若您希望了解进一步的信息,或者能提供发展中国家希望获得此方面信息的人员的姓名、地址,欢迎与下列人员联系。

A Metin Gulmezoglu Coordinator

UK Cochrane Centre, Oxford OX2 7LG, UK

Jose Villar Coordinator (HRP/WHO, Geneva, Switzerland)

Guillermo Carroli Editor (Argentina)

Justus Hofmeyr Editor (South Africa)

Ana Langer Editor (Mexico)

Ken Schulz Editor (USA)

Richard Guidotti Technical support (RHT/WHO, Geneva, Switzerland)

上海市计划生育技术指导所