

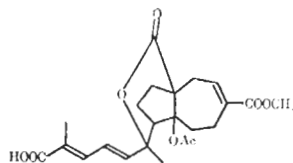
## 土荆皮乙酸的抗生育作用

王伟成 陆荣发 赵世兴 朱雅珍 (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

**提要** 土荆皮乙酸(PA)是一个新型二萜类化合物, 其  $\text{NaHCO}_3$  溶液 sc, im, ig, iv 对大鼠和家兔都能产生明显的抗早孕作用. 用羧甲基纤维素配制的 PA 混悬液给大鼠, 家兔和狗 ig 也能产生明显的抗早孕作用, 其抗早孕的有效剂量分别为 5, 40 及 1 mg/kg. 大鼠 ig PA 10 mg/kg qd  $\times$  3 d, 也能终止大鼠中期妊娠. PA 无雌激素样活性, 其抗早孕的有效剂量能使妊娠大鼠的蜕膜细胞变性, 出血和坏死. 大鼠交配后 d 7-9 时 ig PA 10 mg/kg, d 5 后血中孕酮值开始下降, 外源性孕酮不能明显地对抗 PA 对大鼠的抗早孕作用.

**关键词** 土荆皮乙酸; 抗早孕; 孕酮; 蜕膜

我所植化室从金钱松(*Pseudolarix kaempferi* Gordon)根皮(土荆皮)中提取到一个新型二萜类结晶 6-(3a'-acetoxy-6-methoxy-carbonyl-1', 2', 3', 4', 5', 8', 1a', 3a'-octahydroazulen-3'-yl)-1a', 6-carbolactone-2-methyl-(2E, 4E)2, 4-heptadienoic acid. 命名为土荆皮乙酸(pseudolaric acid B, PA)<sup>(1)</sup> 本文报道 PA 对大鼠, 家兔及狗的抗生育作用.



### 方法和结果

PA 用羧甲基纤维素配成混悬液(简称 PA 混悬液), 供 ig. PA 溶于 5%  $\text{NaHCO}_3$  (简称 PA 溶液), 供 sc, iv, im 及 ig.

**对大鼠的抗早孕作用** 大鼠 339 只, 体重  $222 \pm \text{SD } 32 \text{ g}$ ,  $\text{♀} \text{♂}$  大鼠按 2:1 合笼. 每日阴道涂片, 以查到精子为妊娠的第 1 d, 将妊娠大鼠随机分成给药与对照组. 给药组在妊娠的 d 7-9 给药, 停药后 d 6 剖检胎仔. PA 溶液经 sc, im 及 ig 对大鼠都有明显的抗早孕作用, (与对照组相比,  $P < 0.01$ ). sc 的有效剂量是 25 mg/kg qd  $\times$  3 d, ig 15 mg/kg qd  $\times$  3 d, 10 鼠中有 1 鼠妊娠尚继续, PA 混悬液 ig 15 mg/kg qd  $\times$  3 d, 10 只大鼠的妊娠全部终止(表 1).

Table. 1 Effects of pseudolaric acid B given on d 7-9 after mating on early pregnancy in rats.  
\*P>0.05 \*\*\*P<0.01

Medication		Daily dose (mg/kg)	Number of rats		Number of fetuses	
Vehicle	Route		Dosed	Pregnancy terminated	Dead	Live ( $\bar{x} \pm SD$ )
5% NaHCO <sub>3</sub>	sc	0	20	2	1±1	7.9±1.9
		17	10	2*	1±2	5.5±4.1
		23	10	5*	3±4	4.7±4.9
		25	10	10***	4±6	0
		30	25	22***	6±5	0.5±1.6
		36	27	27***	5±4	0
	im	0	10	2	0	7.3±4.1
		40	10	10***	6±5	0
	ig	0	20	4	0	7.1±3.9
		10	15	2*	3±4	2.5±3.2
15		10	9***	6±3	0.6±1.8	
30		10	10***	6±3	0	
1% CMC	ig	0	20	2	0	7.0±3.8
		2.5	20	8*	3±3	4.0±3.9
		5	32	13***	7±5	4.8±4.7
		10	30	28***	7±4	0.06±0.24
		15	10	10	7±4	0
		20	20	20	6±4	0

**对大鼠抗着床及终止中期妊娠的作用** 将交配后 d 2-4 的妊娠大鼠 sc PA 溶液和 ig PA 混悬液 40 mg/kg qd×3 d, 停药后 d 10 剖检胎仔. 给药组与 NaHCO<sub>3</sub> 及 CMC 对照组相仿, 故无明显的抗着床作用. 在交配后 d 10-12, 给大鼠 PA 混悬液 10 mg/kg qd×3 d 能终止中期妊娠 (P<0.01) (表 2)

#### 对兔及狗的抗早孕作用

1. 兔的抗早孕试验 妊娠家兔 40 只体重 3.3±0.4 kg, 于妊娠的 d 7-9 给药, 停药后 d 10 剖检胎仔. 给兔 sc 和 iv PA 溶液, 抗早孕有效剂量为 30-40 mg/kg qd×3 d 而 ig 混悬液 40 mg/kg qd×3 d 抗早孕效果不如 sc 和 iv 的效果.

2. 狗的抗早孕试验 孕狗 16 只, 体重 12±2 kg, 于妊娠 14 d 内 ig PA 混悬液, 停药后 d 6 剖检胎仔. 1 mg/kg qd×3 d, 4 狗中有 2 狗的早孕终止, 宫腔内胎仔全部死亡. 另

Table 2. Anti-implantation and terminating mid-term pregnancy effects of pseudolaric acid B dissolved in 5% NaHCO<sub>3</sub> for sc or suspended in 1% CMC for ig in rats.

\* P>0.05, \*\*\* P<0.01

Days after mating	Medication		Number of rats	
	Route	Daily dose (mg/kg)	Dosed	Pregnant
2-4	sc	0	10	9
		30	14	13*
		40	10	5*
	ig	0	10	9
		40	10	8*
10-12	sc	0	20	18
		40	20	0***
	ig	0	10	9
		10	10	0***
		40	14	0***

Table 3. Effects of pseudolaric acid B suspended in 1% CMC for ig or dissolved in 5% NaHCO<sub>3</sub> for sc and iv on early pregnancy in rabbits and dogs.

Animals	Medication			Number of animals		Number of fetuses	
	Route	Daily dose (mg/kg)	Days	Dosed	Pregnancy terminated	Dead ( $\bar{x} \pm SD$ )	Live
Rabbits	sc	0	3	5	0	0	7 ± 2
		30	3	6	4	9 ± 4	1 ± 2
		40	3	4	4	4 ± 4	0
	iv	0	3	5	0	0	7 ± 2
		10	3	3	0	0	10 ± 3
		36	3	6	6	8 ± 5	0
	ig	0	3	5	0	0	7 ± 2
		10	3	7	0	2 ± 3	6 ± 3
		20	3	3	0	1 ± 2	7 ± 3
40		3	5	2	2 ± 2	3 ± 3	
Dogs	ig	0	3	2	0	0	5 ± 2
		1	3	4	2	4 ± 1	2 ± 2
		5	3	5	5	4 ± 1	0
		20	1	4	4	necroses	0
		30	1	1	1	necroses	0

Table 4. Estrogenic activity of pseudolaric acid B in mice. N = 10. \* P &gt; 0.05, \*\*\* P &lt; 0.01

Drug	Dose (mg/kg)	Uterine weight /Body weight mg/g ( $\bar{x} \pm SD$ )
Salad oil	0	1.36 ± 0.36
Ethinylestradiol	0.025	2.95 ± 0.33***
	0.05	3.30 ± 0.39***
	0.1	4.10 ± 0.23***
Pseudolaric acid B	2.5	0.99 ± 0.09*
	5	1.06 ± 0.15*
	10	1.24 ± 0.12*

2 狗各有 4 个活胎。剂量 5 mg/kg qd × 3 d, 4 狗的早孕全部终止, 胎仔死亡。给 2 狗单次 ig 混悬液 20-30 mg/kg, 胎仔亦全部死亡 (表 3)。

**PA 的雌激素活性试验** 取刚断奶的未成熟♀小鼠 50 只, 分成 5 组, 分别 sc 冷餐油, 乙炔雌二醇及 PA 各 2 个剂量组, qd × 3 d 停

药后 24 h 解剖。秤子宫重量, 求其与体重的比值。结果 (表 4) 表明给乙炔雌二醇组的子宫的重量明显增加, 而 PA 组与对照组相比, 子宫重量无明显差别 (P > 0.05)。

**PA 对妊娠大鼠血清孕酮的影响** 妊娠大鼠分对照及给药组各 10 只, 给药组在妊娠的 d 7-9 ig 混悬液 10 mg/kg qd, 对照组于相应时间 ig CMC 0.5 ml 两组皆于妊娠 d 7 开始, 每 d 或隔 d 从尾静脉取血, 离心后将血清贮于 -15°C 冰箱中待测。血中孕酮测定采用本实验室建立的放射免疫测定法进行, 以 11α-琥珀酰孕酮牛血清白蛋白做为抗原, 免疫家兔后获得抗血清, 用 [<sup>3</sup>H] 孕酮做为标记物。结果 PA 组孕酮在妊娠的 d 7, 血清中孕酮含量是 117 ± 51 nmol/l, 以后持续上升, d 12 孕酮水平可高达 378 ± 51 nmol/l, d 14 降至 234 ± 129 nmol/l, d 18 降至 135 ± 76 nmol/l。但对照组在妊娠 d 14 后孕酮水平继续上升至 436 ± 22 nmol/l, 并维持在 382 ± 19 nmol/l 直至分娩 (图 1)

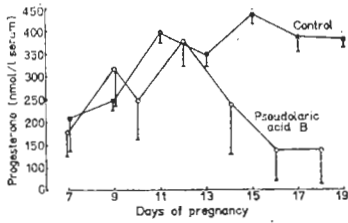


Fig 1. Effects of ig pseudolaric acid B 10 mg/kg, qd $\times$ 3 d, on serum progesterone ( $\bar{x}\pm$ SD) in rats

### 外源性孕酮与 PA 抗早孕作用的相互关系

妊娠大鼠 30 只, 体重  $209\pm 3$  g, 分 3 组: A) 对照组; B) 在妊娠 d 7-9 ig PA 混悬液 10 mg/kg qd; C) 在妊娠 d 7-9 ig PA 混悬液 10 mg/kg qd 并于 d 7-12 加孕酮 5 mg/rat sc, 给药后 d 6 剖检胎仔。结果表明加外源性孕酮不能明显地对抗 PA 对大鼠的抗早孕作用(表 5)。

**PA 对外源性孕酮维持切除卵巢的大鼠早孕的影响** 妊娠 d 8 的大鼠 40 只, 体重  $225\pm 23$  g, 均分 4 组: A) 不加处理的对照组; B)

Table 5. Effects of progesterone(sc on d 7-12 on interrupting early pregnancy by pseudolaric acid B (ig on d 7-9) in rats.

Pseudolaric acid B (mg/kg)	Proges-terone (mg/rat)	Rats dosed	Number of rats bearing fetuses	
			Live	Dead
0	0	10	10	0
10	0	10	0	10
10	5	10	0	9

Table 6. Effect of progesterone(sc on d 8-13) on interrupting early pregnancy by pseudolaric acid B (ig on d 8-10) in rats.

Ovari-ectomy	Proges-terone (mg/rat)	Pseudo-laric acid B (mg/kg)	Rats dosed	Number of rats bearing fetuses	
				Live	Dead
-	0	0	10	10	0
+	0	0	10	0	10
+	10	0	10	7	3
+	10	10	10	0	9

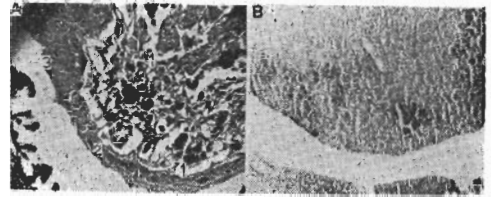


Fig 2. Effects of ig pseudolaric acid B (10 mg/kg daily on d 7-9 after mating) on embryo and decidua of rats which were killed on d 12(A) and d 15(B). (A) 1) Necroses of embryonic cells; 2) Microvascular dilation; 3) Decidua degenerated and necrotized. (B) Almost completely necrosis of decidual tissue and embryo

切除两侧卵巢; C) 切除两侧卵巢同时 sc 孕酮 10 mg/rat, qd $\times$ 6 d; D) 切除两侧卵巢同时 sc 孕酮 10 mg/rat qd $\times$ 6 d 及 ig PA 混悬液 10 mg/kg qd $\times$ 3 d. 妊娠 d 14 剖检胎仔, 结果显示 B 组 10 鼠早孕全部终止, C 组 10 鼠中只有 3 鼠妊娠终止, 可见孕酮有维持妊娠的效果。D 组 10 鼠的妊娠全部终止, 可见 PA 仍能发挥终止妊娠的作用。(表 6)。

**PA 对早孕大鼠蜕膜及胚胎影响的病理观察** 交配后 d 7-9 的妊娠大鼠, ig 20 mg/kg qd, 于交配后 d 12 或 d 15 剖杀, 取下子宫用 10% 福尔马林固定, 常规石蜡包埋切片 HE 染色, 观察蜕膜及胚胎的变化。结果见(图 2)说明。

### 讨 论

本实验的结果证明, PA 采用不同给药途径对大鼠, 家兔和狗均可产生明显的抗早孕作用, 而胃肠道给药的效果不亚于皮下给药的效果, 说明该药在胃肠道内的吸收较好, 这是 PA 的一个优点。PA 对不同种动物的抗早孕敏感性是有差别的, 如 ig PA 混悬液对狗及大鼠的抗早孕效果较家兔为好, 给大鼠 ig PA 混悬液与 PA 溶液的抗早孕效果相仿。

PA 的抗早孕作用显示蜕膜细胞变性, 出血和坏死, 蜕膜损伤严重之处, 其临近的胚胎细胞的损伤亦严重, 提示 PA 有可能首先损伤母体的蜕膜部分, 然而蜕膜的生成和维持又有

赖于孕激素和雌激素<sup>(2,3)</sup>，那么 PA 对蜕膜的损害作用，除却药物的直接作用外，是不是与孕酮的下降有关？我们的实验是在大鼠妊娠后 d 7-9 给药，给药后 d 6 剖检，见到较多的死胎，而血中孕酮值是在给药的 d 5 后才下降，提示 PA 的作用是逐渐发生的，而孕酮值明显下降是在胚胎死亡后，因此 PA 所致的蜕膜坏死不是由于孕酮下降的缘故，本文结果还说明，外源性孕酮不能对抗 PA 的抗早孕作用，但激素靶器官对激素的反应能力，还取决于靶器官中受体含量以及甾体激素进入细胞后能否与胞浆受体蛋白质结合，而后转入细胞核，在核内与核受体结合，引起生理效应<sup>(4,5)</sup>。如果药物通过对受体的不可逆性结合与孕酮竞争同一受体或影响受体的结合能力，也必将影响蜕膜及胚胎的发育，因此测定子宫和卵巢中激素受体的含量和结合力才能对 PA 是否影响靶器官对激素的反应能力作出判断。

在胎仔方面，病理观察表明对滋养叶细胞

及胚胎细胞有严重损害，这除了考虑蜕膜受到损害引起的之外，还不应忽略 PA 对胎儿的直接作用，小分子量(一般指 200—400)的药物，可扩散通过胎盘<sup>(6)</sup>。PA 的分子量是 432，因此 PA 亦可能通过胎盘直接作用于胎儿。

**致谢** 本所孙伟康同志参加切片，肿瘤医院沈守雨医师检查病理。本文得到丁光生教授的指导和审改。

### 参 考 文 献

- 1 Zhou BN, Ying BP, Song GQ, Chen ZX, Han J, Yan YF. *Planta Med* in press
- 2 Deanelly R. *J Reprod Fertil* 1973 Oct; 35 (1): 183
- 3 张友南、李伟雄、袁其晓. 生殖与避孕 1980 年 12 月; (创刊号):31
- 4 Hsueh AJW. *Clin Obstet Gynecol* 1978 Mar; 21 (1):53
- 5 Davies J, Ryan KJ. *Endocrinology* 1972 Feb; 90 (2):53
- 6 Davies DM, ed. *Textbook of adverse drug reactions*. 1st ed. Oxford: Oxford University Press, 1977:65

*Acta Pharmacologica Sinica* 1982 Sep; 3 (3) : 188—192

## ANTIFERTILITY EFFECT OF PSEUDOLARIC ACID B

WANG Wei-chen, LU Rong-fa, ZHAO Shi-xing, ZHU Ya-zhen  
(Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031)

**ABSTRACT** Pseudolaric acid B, a novel diterpenoid, was isolated from the root of *Pseudolarix kaempferi* Gordon. Pseudolaric acid B was injected sc 25 mg/kg or ig 15 mg/kg in rats and sc 30 mg/kg or ig 40 mg/kg in rabbits daily on d 7-9 after mating. In dogs, pseudolaric acid B was injected ig at 5 mg/kg for 3 d within 2 wks after mating. Early pregnancies were terminated in all treated animals. Pseudolaric acid B was given ig 10 mg/kg daily to 10 ♀ rats on d 10-12 after mating. Mid-term pregnancies of all rats were termi-

nated. However, implantation was not prevented in rats when pseudolaric acid B 40 mg/kg was injected sc or ig daily on d 1-3 after mating. Pseudolaric acid B showed no estrogenic activity, but caused severe decidual hemorrhage and necrosis. It lowered the plasma progesterone level after d 5 of administration at antifertility dose levels. Progesterone did not antagonize the effects of pseudolaric acid B on early pregnancy in rats.

**KEY WORDS** pseudolaric acid B; antifertility; progesterone; decidua