

咖啡酸抗小鼠早孕和抗孕激素的活性

郑玉群¹、徐蔽本、周 曙、李耐三、沈梓龙、陈卫建² (中国药科大学药理教研室, 南京 210009)

提要 ig CFA 对小鼠具有显著的抗早孕作用, ED₅₀ 为 2.13 mg/kg bid × 3 d. 此作用可为外源性 MG, hCG 和 Tia 所拮抗. ig CFA 10 mg/kg bid × 3 d 显著抑制假孕小鼠子宫蜕膜细胞反应, 但对去卵巢小鼠子宫蜕

膜细胞反应没有影响. 早孕小鼠 ig CFA 后 72 h 血浆孕酮水平仅为正常妊娠的 1/4. 组织切片表明 CFA 使妊娠小鼠黄体提前萎缩, 蜕膜组织退化、坏死.

1985年10月14日收稿 1986年11月7日修回

¹ 现在南京医学院药理教研室, 南京 210005

² 南京军区军医学校病理教研室, 南京 210016

关键词 咖啡酸; 人工流产; 蜕膜; 黄体酮; 甲地孕酮; 绒毛膜促性腺激素; 硫必利

咖啡酸(caffeic acid, CFA)是植物中广泛存在的一种有机酸⁽¹⁾,自1970年以来陆续发现其具有止血、提升白细胞和血小板计数,降血脂以及利胆等作用并应用于临床⁽²⁾。从苯丙烯酸类化合物紫草酸、绿原酸的抗生育作用⁽³⁾得到启发,本文研究了结构与其相似的CFA抗小鼠早孕作用,并对CFA抗孕激素活性进行了初步探讨。

实验材料

咖啡酸(无锡第六制药厂,药用级),孕酮放免测定药箱([1,2,6,7-³H]孕酮比度3.0 TBq/mmol, New England Nuclear Corporation),人绒毛膜促性腺激素(hCG,上海生物化学制药厂,药用级),甲地孕酮(MG,本院有机化学教研室,水混悬剂),硫必利(tiapride, Tia, 江苏淮阴制药厂,药用级),顺式咖啡酸(cisCFA, 本院药物化学教研室)。

昆明种小鼠(本院动物房),体重27.0±SD 1.2 g,整个实验期间,喂以固体平衡饲料,自由饮水,控制室温18-20℃。

方法与结果

CFA的抗小鼠早孕作用 成熟♀、♂小鼠以2:1合笼,每晨检查阴栓,以发现阴栓为妊娠d1。实验分为第1组对照组及2-5组:分别在妊娠d1, 2; d6, 7; d11, 12和d16, 17 ig CFA 15 mg/kg bid, 第6组于妊娠d6, 7, 8 ig cisCFA 10 mg/kg bid, 第7-12组于妊娠d6, 7, 8 ig 不同剂量的CFA bid。各组小鼠均在末次给药的次日解剖,记录流产小鼠数。卵巢用甲醛液固定作组织切片。

结果表明CFA具有显著的抗早孕作用,抗着床次之,对中、晚期妊娠无影响。按机率单位法计算抗早孕ED₅₀为2.13(95%置信限1.67-2.71)mg/kg bid×3 d。cisCFA无抗早孕作用(表1)。组织切片表明对照组卵巢黄体细胞肥大,胞浆丰富透亮,细胞界限清楚;而CFA组流产小鼠黄体萎缩,黄体细胞变小,

Tab 1. Interceptive activity of caffeic acid(CFA) in pregnant mice. Gum acacia and CFA were given to pregnant mice ig twice a day. The mice were killed on d9 of gestation. *p>0.05, *p<0.01 vs gum group.**

Drug	Dose (mg/kg)	Mice Aborted/Dosed
2% Gum	—	1/15
CFA	15(d 1,2)	13/17***
	15(d 6,7)	11/12***
	15(d 11,12)	0/10*
	15(d 16,17)	0/10*
CisCFA	10(d 6,7,8)	0/15*
CFA	10(d 6,7,8)	15/15***
	4.5(d 6,7,8)	9/10***
	3.3(d 6,7,8)	8/10***
	2.5(d 6,7,8)	5/10***
	1.9(d 6,7,8)	5/12***
	1.4(d 6,7,8)	3/10***

胞浆减少,部分小鼠黄体细胞发生核固缩; cisCFA组小鼠黄体无异常变化。

CFA抗小鼠孕激素活性

1. 外源性MG, hCG及Tia对CFA抗早孕作用的影响 同上获得妊娠小鼠,于妊娠d6,7,8 ig CFA 10 mg/kg bid的同时sc MG 50 mg/kg或ip hCG 10 IU/鼠qd或妊娠d5起连续4 d ig Tia 50 mg/kg bid,所有小鼠于妊娠

Tab 2. Effects of megestrol (MG), human chorionic gonadotropin (hCG), and tiapride (Tia) on interceptive effect of CFA. Gum acacia, CFA, MG and hCG were given to 6 d pregnant mice for 3 d, Tia for 4 d. The mice were killed on d 9 of gestation. *p>0.05, *p<0.01 vs gum group, †††p<0.01 vs CFA group.**

Group	Dose (mg/kg)	Mice Aborted/Dosed
2 % Gum	—	1/15
CFA	10 (ig bid)	15/15***
CFA + MG	10 (CFA ig bid) + 50 (MG sc bid)	0/11†††
CFA + hCG	10 (CFA ig bid) + 10 IU (hCG ip qd)	0/8†††
hCG	10 IU (ip qd)	0/8†††
CFA + Tia	10 (CFA ig bid) + 50 (Tia ig bid)	2/15†††
Tia	50 (ig bid)	1/10†††

d 9 解剖, 记录流产小鼠数。卵巢作组织切片。

合并用药的 3 组小鼠仅个别发生流产, 其余妊娠小鼠胚胎发育正常(表 2)。组织切片发现 CFA 合用 MG 组小鼠卵巢黄体部分萎缩, 合用 hCG 或 Tia 组则基本正常。

2. CFA 对假孕小鼠子宫蜕膜细胞反应 (DCR) 的影响 成熟♀小鼠与结扎输精管的♂小鼠按 2:1 合笼, 每晨检查阴栓, 以发现阴栓为假孕 d 1, 于假孕 d 4 在乙醚麻醉下剖腹, 一侧子宫角穿线造成 DCR, 另一侧作对照。实验设 3 组, 第 1 组为对照组, 第 2 组对 DCR 形成影响组: 于假孕 d 4 起连续 3 d ig CFA 10 mg/kg bid 或 CFA 与 MG(sc 50 mg/kg bid) 合用, 第 3 组对 DCR 维持影响组: 于假孕 d 6 起连续 3 d 给 CFA 或 CFA 与 MG 合用, 剂量同上。各组于假孕 d 9 解剖, 分别称取两侧子宫湿重。子宫以甲醛液固定作组织切片。

从表 3 A 可见 CFA 显著抑制假孕小鼠 DCR 的形成与维持, 这种抑制作用可为合用 MG 所拮抗。对照组小鼠穿线侧子宫明显增粗, 组织切片可见内膜基质增生并分化成胞浆丰富, 体积较大、双核或多核的蜕膜细胞, 少见腺体存在, 而 ig CFA 的小鼠穿线侧子宫较细, 中多见腺体, 未见或只见部分内膜处有蜕膜样内膜变。CFA 与 MG 合用, 在子宫重量上与对照组无显著差异, 但在组织切片上可见蜕膜组织局部发生轻度坏死。

3. CFA 对去卵巢小鼠 DCR 的影响 ♀小鼠在乙醚麻醉下摘除双侧卵巢及输卵管, 1 wk 后用橄榄油刺激诱发 DCR⁽⁴⁾。实验设 3 组, 第 1 组为对照组, 第 2 组对 DCR 形成影响组: 子宫腔注油刺激的当天起连续 3 d ig CFA 10 mg/kg bid, 第 3 组对 DCR 维持影响组: 子宫腔注油的 d 3 起连续 3 d ig CFA 10 mg/kg bid。子宫腔注油的 d 6 处死小鼠, 剖取称重湿子宫, 并将子宫作组织切片。

结果表明 CFA 对去卵巢小鼠, 用雌、孕激素处理再以橄榄油刺激诱发的 DCR 重量上无显著抑制作用(表 3 B), 但在组织形态上仍见蜕膜组织的轻度坏死现象。

4. CFA 对早孕小鼠血浆孕酮水平的影响 妊娠小鼠 32 只随机均分为 4 组, 于妊娠 d 6 起连续 3 d ig CFA 10 mg/kg bid。在给 CFA 前和给 CFA 后 24, 48 和 72 h(自第一次给药算起), 分别摘眼球采血, 草酸钠抗凝, 离心后取血浆 50 μ l, RIA⁽⁵⁾测定血浆孕酮水平。

给 CFA 前及后 24, 48 及 72 h, 小鼠血浆孕酮浓度分别为 112 ± 5 , 61 ± 7 , 30.8 ± 1.7 , 20.8 ± 2.2 nmol/L。给药后 72 h 血浆孕酮水平仅为正常妊娠(83 ± 5 nmol/L)的 1/4。CFA 显著降低了早孕小鼠血浆孕酮水平。

讨 论

早孕时子宫的 DCR 对维持胚胎的生长发

Tab 3. Effect of CFA on decidual cell reaction (DCR) in pseudopregnant (A) and ovariectomized (B) mice and its reversal by megestrol (MG). * $p > 0.05$, ** $p < 0.01$ vs control, ††† $p < 0.01$ vs CFA.

Group	Drug	Mice	Wet weight of uterus (mg)	
			Non-traumatized uterine horn	Traumatized uterine horn
A	Control	—	42 \pm 8	604 \pm 71
	Initiation of DCR	CFA	42 \pm 6	55 \pm 10***
		CFA + MG	40 \pm 4	508 \pm 64†††
	Maintenance of DCR	CFA	33 \pm 4	55 \pm 12***
		CFA + MG	39 \pm 5	590 \pm 80†††
B	Control	—	49 \pm 7	539 \pm 53
	Initiation of DCR	CFA	48 \pm 4	508 \pm 50*
	Maintenance of DCR	CFA	48 \pm 9	519 \pm 64*

育起重要作用,已知 DCR 是受卵巢黄体分泌的甾体激素调控的。CFA 在假孕小鼠明显抑制 DCR 的形成与维持,破坏蜕膜组织,而在去卵巢小鼠和假孕小鼠的 CFA 合用 MG 组仍见蜕膜组织的损伤,提示 CFA 不仅改变了形成和维持 DCR 所需要的激素环境,而且对蜕膜组织有一定的直接作用。这种间接和直接的抑制 DCR 可能是 CFA 抗早孕的主要机理。

妊娠早期足够的孕酮水平有赖于妊娠黄体的存在⁽⁶⁾。早孕小鼠 ig CFA, 血浆孕酮水平自给药后 24 h 就明显下降,组织切片也见 CFA 使早孕黄体萎缩,这说明黄体受损导致了血浆孕酮水平的下降,已知 hCG 能兴奋卵巢合成和分泌孕酮,故当 CFA 与 hCG 合用时, hCG 拮抗了 CFA 的抗早孕作用。

小鼠早孕黄体的形成与维持主要与垂体催乳素有关⁽⁷⁾, 而多巴胺是抑制催乳素分泌的最重要的甚至唯一的因素⁽⁸⁾。CFA 可在一定程度上抑制小鼠中枢儿茶酚氧位甲基移位酶 (COMT) 的活性⁽⁹⁾, 如果中枢 COMT 被抑制, 多巴胺代谢障碍, 可使垂体催乳素分泌减少, 故当多巴胺拮抗剂 Tia 与 CFA 合用, Tia 阻止了 CFA 的抗早孕作用。我们推测 CFA 可能通过某种途径具有抗催乳素性质, 继使得黄体损伤, 孕酮水平下降, 最终导致流产。CFA 抗早孕作用的反式立体构型的要求说明这种作用

可能是通过某种受体或酶系而实现的。

致谢 王兴海、王农怡、韦颖梅 同志协助部分工作。

参 考 文 献

- 1 胡润生、李宝珍、陈 玫. 滨蒿利胆有效成份的研究. 药学报 1965; 12 : 289
- 2 徐献本、邵鹤生、潘尚仁, 等. ³H-咖啡酸体内过程研究. 南京药学院学报 1980; 11(1) : 24
- 3 Farnsworth NR, Bingel AS, Cordell GA, Crane FA, Fong HHS. Potential value of plants as sources of new antifertility agents I. *J Pharm Sci* 1975; 64 : 535
- 4 Miller BG, Emmens CW. The effects of oestradiol and progesterone on the incorporation of tritiated uridine into the genital tract of the mouse. *J Endocrinol* 1969; 43 : 427
- 5 McCormack JT, Greenwald GS. Progesterone and oestradiol-17 β concentrations in the peripheral plasma during pregnancy in the mouse. *Ibid* 1974; 62 : 101
- 6 Deanesly R. The endocrinology of pregnancy and foetal life. In: Parkes AS, ed. *Marshall's physiology of reproduction*; vol 3. 3rd ed. London: Longman Green, 1966 : 891-1063
- 7 Murr SM, Bradford GE, Geschwind II. Plasma luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone and prolactin during pregnancy in the mouse. *Endocrinology* 1974; 94 : 112
- 8 MacLeod RM, Lehmyer JE. Studies on the mechanism of the dopamine-mediated inhibition of prolactin secretion. *Ibid* 1974; 94 : 1077
- 9 Ross SB, Haljasmaa Ö. Catechol-O-methyl transferase inhibitors—*in vivo* inhibition in mice. *Acta Pharmacol Toxicol* (Copenh) 1964; 21 : 215

Acta Pharmacologica Sinica 1987 May, 8 (3) : 250-254

Abortifacient activity of caffeic acid and its antiprogestational action in early pregnant mice

ZHENG Yu-Qun¹, XU Fu-Ben, ZHOU Shu, LI Nai-San, SHEN Zi-Long, CHEN Wei-Jian
(Dept Pharmacology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009)

ABSTRACT Fourteen out of fifteen 6-d pregnant mice were found aborted after ig caffeic acid(CFA) 10 mg/kg bid for 3 d.

The ED₅₀ of abortifacient effect of CFA was 2.13 (mg/kg bid \times 3 d). The interceptive action of CFA was counteracted by the

simultaneous sc megestrol (MG) 50 mg/kg bid \times 3 d, ip hCG 10 IU/(mouse·d) \times 3 d or ig tiapride 50 mg/kg bid \times 4 d.

CFA inhibited significantly the decidual cell reaction (DCR). This effect was no longer observed when MG was given simultaneously. Moreover, CFA had no effect on DCR of the sex-hormone-treated ovariectomized mice. The plasma progesterone level of the pregnant mice decreased markedly after ig CFA.

Histomorphologic examination of the ovaries from aborted or pseudopregnant

mice treated by CFA revealed a serious atrophy of the corpora lutea and degeneration and necrosis of the decidual tissue. Even when MG was injected simultaneously, the trivial degeneration of the decidual tissue was still seen.

KEY WORDS caffeic acid; induced abortion; decidua; progesterone; megestrol; chorionic gonadotropins; tiapride

¹ Now in *Dept Pharmacology, Nanjing Medical College, Nanjing 210005.*