

整体试验结果 实验组和对照组各4只鼠。实验组回收47只卵子,其中31只受精,受精率为66%。对照组回收37只卵,其中35只受精,受精率为95%,二组差别显著($P < 0.01$)。凡已受精卵均发育到2-8细胞期,未受精卵则停留在单细胞期。

DISCUSSION

在体内仓鼠卵子在受精前PA从卵巢囊注入或体外与PA解育,均影响卵子的受精能力,但对精子的活力和受精能力没有影响,尽管其浓度大于卵子所用浓度的2-50倍,说明仓鼠卵子比精子对PA的作用更为敏感。

体外受精试验的结果表明,若PA在培养液中的浓度为5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时,卵子去卵丘之后的受精能力下降,保留卵丘的卵子,其受精能力不受影响;PA在培养液中为相同浓度时,保留卵丘卵子的受精能力均高于移去卵丘的卵子,这可能是卵丘的存在对抗了PA的作用,对卵子起了保护的功能。

整体试验结果表明PA不影响仓鼠的性周

期及正常排卵,但确有部分卵子不能受精,其原因需作深一步研究。总之,无论体内、体外或整体试验,均说明PA有明显的抗生育作用,而且作用环节是多方面的。

致谢 王伟成副研究员提供土荆皮乙酸,石其贤副研究员、顾芝萍研究员审校。

REFERENCES

- 1 Wang WC, Lu RF, Zhao SX, Zhu YZ. Antifertility effect of pseudolaric acid B. *Acta Pharmacol Sin* 1982; 3 : 188
- 2 Wang WC, Lu RF, Zhao SX, Gu ZP. Comparison of early pregnancy-terminating effect and toxicity between pseudolaric acids A and B. *Acta Pharmacol Sin* 1988; 9 : 445
- 3 Parkening TA, Chang MC. Effects of wheat germ agglutinin on fertilization of mouse ova *in vivo* and *in vitro*. *J Exp Zool* 1976; 195 : 215
- 4 Yanagimachi R, Chang MC. *In vitro* fertilization of golden hamster ova. *Ibid* 1964; 156 : 361
- 5 Yanagimachi R. *In vitro* capacitation of hamster spermatozoa by follicular fluid. *J Reprod Fertil* 1969; 18 : 275

中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1990 Jan; 11 (1) : 62-65

环氯司坦在妊娠大鼠和猕猴上的止孕作用¹

刘昌官、林申明、李伟康、沈佩娟、王志兴、包淳洋、徐万祥
(上海市计划生育科学研究所,上海200032,中国)

Interceptive activity of epostane in pregnant rats and rhesus monkeys

LIU Chang-Guan, LIN Zhong-Ming, LI Wei-Kang, SHEN Pei-Juan, WANG Zhong-Xing, BAO Chun-Yang, XU Wan-Xiang (Shanghai Institute of Planned Parenthood Research, Shanghai 200032, China)

ABSTRACT A complete interceptive action on pregnancy was shown after ig epostane (Epo)

Received 1989 Apr 29 Accepted 1989 Jun 25
¹ Project supported by the China State Family Planning Commission

48 and 96 mg/kg on d 10 of pregnancy in rats. ED₅₀ (95% fiducial limits) of Epo was 20.7 (16.3-26.3) mg/kg. Epo 48 mg/kg ig on d12, 14 and 16 of pregnancy lowered rat plasma progesterone concentrations ($P < 0.05$) and plasma corticosterone on d 16 of pregnancy ($P < 0.05$). Epo 35 mg/(kg·d) was given ig on d 50-54 of pregnancy in rhesus monkeys. Vaginal bleeding was seen in all of the 6 treated monkeys. Complete expulsions of fetal and placental materials occurred in 5 of the treated monkeys, among which 2 aborted on d 53 and the other 3 on d 54 of pregnancy. Plasma progesterone concentrations of the treated monkeys were lowered on d 52, 53 and 54 of pregnancy ($P < 0.05$) and plasma

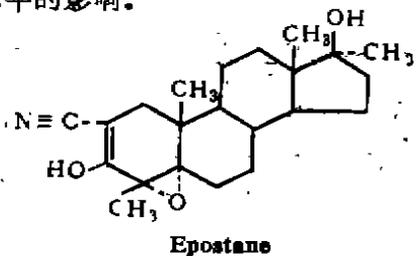
estradiol on d 51, 52, 53, 54 and 55 ($P < 0.05$), while there were no significant differences in plasma hydrocortisone. Epo may be a valuable supplement to the existing methods of female contraception.

KEY WORDS epostane; *Macaca mulatta*; progesterone; estradiol; corticosterone; hydrocortisone; female contraceptive agents

摘要 大鼠妊娠 d 10 单次 ig 环氧司坦(Epo) 48 和 96 mg/kg, 可使妊娠终止, ED_{50} (95% 可信限) 为 20.7 (16.3-26.3) mg/kg, 并可使大鼠血浆孕酮下降 ($P < 0.05$). 6 只猕猴于妊娠 d 50 起 ig Epo 35 mg/(kg·d), 连续 5 d, 其中 5 只完整排出胎儿及胎盘. 给药后, 猕猴血浆孕酮及雌二醇均明显下降 ($P < 0.05$), 血浆氢可的松无明显变化 ($P > 0.05$), 提示 Epo 可能是有希望的女用避孕药.

关键词 环氧司坦, 猕猴, 黄体酮, 雌二醇, 皮质酮, 氢可的松, 女用避孕药

环氧司坦(epostane, Epo)的化学名为 4 α , 5-环氧-3, 17 β -二羟基-4, 17-二甲基-5 α -雄甾-2-烯-2-腈 (4 α , 5-epoxy-3, 17 β -dihydroxy-4, 17-dimethyl-5 α -androst-2-ene-2-carbonitrile). Epo 在体内能竞争性地抑制 3 β -羟基甾体脱氢酶系统的活性, 使孕酮的生成减少, 对妊娠大鼠、猕猴和妇女都有明显的避孕作用⁽¹⁻³⁾. 它是一种新型的抗孕激素药物. 本文在妊娠大鼠和猕猴上研究 Epo 的避孕作用, 特别是同时观察 Epo 对血浆孕酮和皮质激素水平的影响.



MATERIALS AND METHODS

Epo, 上海医药工业研究院合成, 混悬于茶油中给药. 测黄体酮(progesterone)、雌二醇

(estradiol)及氢可的松(hydrocortisone)的放射免疫药箱均由世界卫生组织(WHO)提供, 测 [125 I]皮质酮(corticosterone)的放射免疫药箱为 Cambridge Medical Technology 产品.

将雌性成熟未育的 Sprague-Dawley 大鼠和有生育力的 σ 性大鼠合笼, 每天早晨作阴道涂片, 以发现精子的当天作为妊娠 d 1. 取 60 只体重为 $210 \pm SD$ 25 g 的妊娠大鼠随机分组, 每组 10 只, 分别 ig Epo 及茶油.

Epo 对妊娠猕猴的避孕作用 12 只出生 5-6 yr、体重为 6.8 ± 0.6 kg、月经周期正常的雌性猕猴, 由浙江省实验动物中心宁波天童猕猴场供应, 分别单独饲养于笼内. 每天 8 am 及 5 pm 观察 2 次, 以笼下盘中开始出现月经血的当天作为月经 d 1. 1987 Nov-Dec 期间, 将月经 d 11 的猕猴与有生育力的 σ 性猕猴合笼 5 d. 合笼期间每天早晨检查阴道涂片, 以初次发现精子的当天作为妊娠 d 1, 初步确认妊娠的猕猴, 在妊娠 d 48-50 必须用触诊检查再次加以证实. 将妊娠猕猴随机分为 2 组, 每组 6 只. 从鼻腔分别 ig Epo 及等容量茶油.

Epo 对妊娠大鼠避孕试验及大鼠、猕猴的血样收集 大鼠妊娠 d 10 对各实验组分别单次 ig Epo 6, 12, 24, 48 和 96 mg/kg. 在妊娠 d 16 解剖大鼠, 记录孕鼠数及存活胎仔数, 在妊娠 d 10 给药前及妊娠 d 12, 14, 16 分别从尾静脉采血. 在猕猴妊娠 d 50 Epo 35 mg/kg 连续 ig 5 d, 对照组 ig 纯茶油. 记录妊娠猕猴流产时间及阴道出血, 同时观察妊娠反应, 食欲情况以及其它反应. 在给药前妊娠 d 49 和给药后 d 50, 51, 52, 53, 54, 55 和 d 56 分别从股静脉采血. 大鼠和猕猴的血均用肝素抗凝, $1500 \times g$ 离心 15 min, 将上清液贮于 $-20^\circ C$.

血浆孕酮、雌激素、氢可的松和皮质酮的 RIA 测定 猕猴的血浆孕酮、雌激素、氢可的松和大鼠的血浆孕酮均用配对试剂, 按 RIA 测定法⁽⁴⁾测定其含量. 将大鼠血浆 0.1 ml 稀释 100-250 倍, 经平行试验, 送交 WHO 放射合作中心认可. 大鼠血浆皮质酮亦用配对试

剂进行含量测定⁽⁶⁾, 每批试验的批间误差小于15%, 批内误差小于10%, 每批测定均伴有内质控样品, 检验其精确性和可靠性。所有数据均进行t检验。

RESULTS

Epo对妊娠大鼠的止孕作用 结果见Tab 1。在妊娠d 10, ig Epo 48或96 mg/kg, 可使大鼠胎仔全部坏死或吸收。按机率单位分析, Epo单次ig的止孕ED₅₀(95%可信限)为20.7(16.3-26.3) mg/kg。

Tab 1. Interceptive activity of epostane (Epo) ig given on d 10 of pregnancy in rats. n=10, $\bar{x} \pm SD$. *P>0.05, **P<0.05, ***P<0.01.

Epo(mg/kg)	Pregnant/Total rats	Viable fetuses
0	10/10	10.6±1.7
6	10/10	10.3±3.1*
12	9/10	9.4±3.8*
24	4/10	4.0±5.2**
48	0/10	0***
96	0/10	0***

Tab 2. Effects of ig epostane (Epo) on plasma concentrations of progesterone and corticosterone in rats. Epo was given on d 10 of pregnancy. n=8, $\bar{x} \pm SD$. *P>0.05, **P<0.05 vs control of the same day of pregnancy; ††P<0.05 vs before administration.

Epo (mg/kg)	Plasma concentration			
	d 10	d 12	d 14	d 16
Progesterone (nmol/L)				
—	290±190	380±160	380±140	390±130
12	320±100	340±90	320±160	360±80
24	270±90	260±110	270±140	320±130
48	310±50	170±80	220±170	130±70
Corticosterone (μmol/L)				
—	1.0±0.4	1.0±0.4	1.6±0.8	1.4±0.5
12	1.4±0.3	1.5±0.7	1.6±0.9	1.4±0.6
24	1.0±0.2	1.3±0.6	1.5±0.6	1.6±0.6
48	1.0±0.3	2.3±0.7	1.3±0.5	0.7±0.1

Epo对妊娠大鼠血浆孕酮及皮质酮水平的影响 结果见Tab 2。在妊娠d 10, ig Epo 48 mg/kg, d 12, 14及d 16的实验组血浆孕酮水平及d 16的实验组血浆皮质酮水平, 分别低于对照组(P<0.05), d 12实验组皮质酮水平高于对照组(P<0.05), d 12和d 16实验组孕酮水平分别低于给药前d 10(P<0.05)。Epo 24 mg/kg, ig d 12和d 14的实验组孕酮水平分别低于对照组(P<0.05)。

Epo对妊娠猕猴的止孕作用 妊娠d 50起, 鼻腔ig Epo 35 mg/kg, 连续5 d, 实验组6只孕猴在给药后均有阴道出血, 其中2只于d 53, 另3只于d 54分别娩出胎猴及胎盘各1只, 娩出时, 小猴均已死亡。5只母猴除食量稍有减少外, 外观未见异常。实验组另1只孕

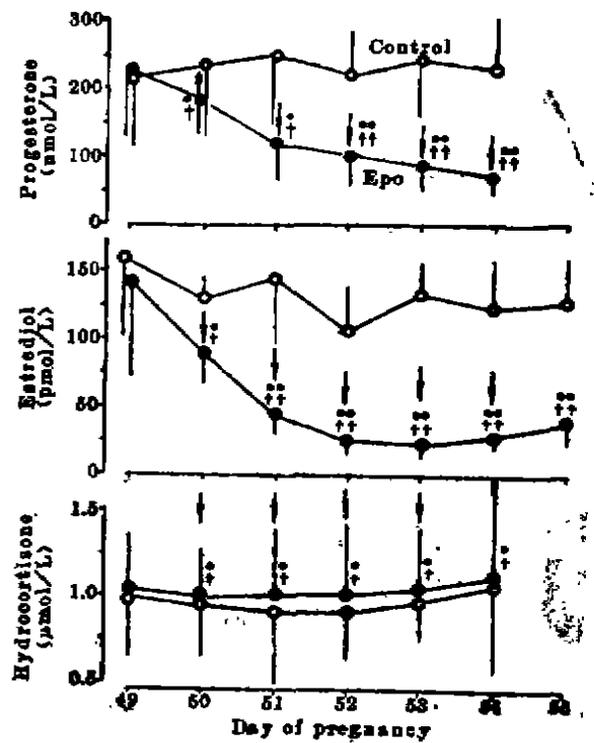


Fig 1. Effects of ig epostane 35 mg/kg on progesterone, estradiol and hydrocortisone in plasma of pregnant rhesus monkeys. (○) Control, n=6, $\bar{x} \pm SD$. *P>0.05, **P<0.05 vs control of the same day of pregnancy; ††P>0.05, ††P<0.05 vs before administration.

猴虽然阴道出血 3 d, 但继续维持妊娠, 直至正常分娩。对照组 6 只孕猴均无阴道出血, 流产或其它异常反应。

Epo 对妊娠猕猴血浆孕酮, 雌二醇及氢可的松的影响 结果见 Fig 1。在妊娠 d 52, 53 及 54, 实验组血浆孕酮水平分别低于对照组 ($P < 0.05$)。妊娠 d 52, 53 及 54, 实验组血浆孕酮水平分别低于给药前 ($P < 0.05$)。妊娠 d 51, 52, 53, 54 及 55, 实验组血浆雌二醇水平也分别低于对照组 ($P < 0.05$)。实验组给 Epo 前后的血浆皮质醇水平与对照组无显著差异 ($P > 0.05$)。在妊娠 d 51, 52, 53 及 54 实验组血浆雌二醇水平也分别低于给药前 d 50 ($P < 0.05$)。

DISCUSSION

本文观察到 Epo 对妊娠大鼠和妊娠猕猴的止孕作用, 与文献(1)结果一致。但 Creange 等仅在 sc ACTH 的假孕大鼠上测定给 Epo 后 4 h 的血浆孕酮和皮质酮水平, 他们也仅在 sc ACTH 的未孕猕猴上测定给 Epo 后 4 h 的血浆氢可的松水平。大鼠和猕猴 ig Epo, 在止孕作用发展的过程中, 同时观察 Epo 对孕激素和皮质激素水平的影响, 文献中尚未见报道。本文发现 Epo 在止孕有效的剂量下, 可使大鼠血浆孕酮持续下降达 6 d 之久, 在妊娠 d 50 的猕猴上, 由于多数给药猴在 ig Epo 后 3-4 d 流产。流产前血浆孕酮水平也显著下降, 而对

血浆皮质醇没有影响。如果 Epo 的剂量增加到肾上腺皮质 3β -羟甾脱氢酶应激反应的阈值时, 氢可的松水平将发生变化。大鼠肾上腺皮质主要分泌皮质酮和脱氢皮质酮⁽⁵⁾, 而猕猴的主要皮质激素为氢可的松, 因此本文用不同方法加以测试。

感谢 环氧司坦由上海医药工业研究院合成室马如鸿提供。

REFERENCES

- 1 Creange JE, Anzalone AJ, Potts GO, Schane HP. Win 32, 729, a new, potent interceptive agent in rats and rhesus monkeys. *Contraception* 1981; 24 : 289
- 2 Birgeron L, Odland V, Johansson EDB. Effects of Epostane on progesterone synthesis in early human pregnancy. *Ibid* 1986; 33 : 401
- 3 Liu CG, Li WK, Xu RY, Shen QC, Lin ZM. A pharmacological study on interceptive effects of epostane in rats. *Reprod Contracep* 1989; 9(3) : 42
- 4 Sufi SB, Donaldson A, Jeffcoate SL. *Method Manual : Programme for the provision of matched assay reagents for the radioimmunoassay of hormones in reproductive physiology*. 13th ed. Geneva: WHO, 1989 : 67
- 5 Anonymous. *Protocol for the ¹²⁵I radioimmunoassay of corticosterone*. Billerica: Cambridge Medical Technology, Inc, 1987 : 2
- 6 Milković K, Milković S. Functioning of the pituitary adrenocortical axis in rats at and after birth. *Endocrinology* 1963; 73 : 535

欢迎购阅《中国药理学报投稿须知》

本刊编印的《中国药理学报投稿须知》在听取各方面意见的基础上, 并根据国内、外有关期刊要求的各种新规定, 1990年又作了较大的补充和修改。现印了一部分单印本, 以满足作者和同行的需要。

《中国药理学报投稿须知》每份收成本费 0.40 元(内含邮资)欢迎购阅。