

doi:10.3969/j.issn.1000-9760.2013.04.006

棕榈花蕾水提物抗雌性小鼠生育作用

齐汝霞^{1,2} 张 鹏² 姚晓红³ 王传功² 李卫平¹

(¹ 安徽医科大学基础学院,安徽 合肥 230032;² 济宁医学院基础学院,山东 济宁 272067;

³ 济宁医学院附属济宁市第一人民医院,济宁 272011)

摘 要 **目的** 探讨棕榈花蕾水提物对雌性小鼠的抗着床、抗早孕及避孕作用。**方法** 给雌性小鼠分别用低剂量(2.5g/kg)、中剂量(5g/kg)和高剂量(10g/kg)的棕榈花蕾水提物灌胃,研究其抗着床、抗早孕及避孕作用。**结果** 抗着床实验中低、中、高剂量棕榈花蕾水提物对小鼠的妊娠抑制率为 60% 以上,中高剂量棕榈花蕾水提物对早期妊娠小鼠有明显致流产作用。中、高剂量棕榈花蕾水提物能使小鼠的避孕率达 100%。**结论** 棕榈花蕾水提物具有显著的抗着床、抗早孕及避孕作用。

关键词 棕榈花蕾水提物;雌性小鼠;抗着床;抗早孕;避孕

中图分类号:R-33 **文献标志码**:A **文章编号**:1000-9760(2013)08-253-03

The effect of aqueous extract of kittul alabastrum on antifertility in female mice

QI Ru-xia,ZHANG Peng,YAO Xiao-hong,et al

(Academy of Basic Medicine, Anhui Medical University, Hefei 230032, China)

Abstract:**Objective** To explore anti-implantation, anti-early pregnancy function and contraceptive effect of aqueous extract of kittul alabastrum in mice. **Methods** To study the effect of anti-implantation, anti-early pregnancy function and contraceptive effect of mice which were given aqueous extract of kittul alabastrum with 2.5 g/kg, 5 g/kg, 10g/kg. **Results** In the experiment of anti-implantation, inhibition rate of pregnancy was over 60%, and middle and high dose group induced miscarriage of early pregnancy mice. Contraception rate of middle dose and high dose group was 100%. **Conclusion** Aqueous extract of kittul alabastrum was anti-implantation, anti-early pregnancy and contraceptive effect on female mice.

Key words:Aqueous extract of kittul alabastrum;Mice;Anti-implantation;Anti-early pregnancy;Contraceptive effect

棕榈的根、皮、果实和子花古人早用于中医临床。李时珍的《本草纲目》记载棕榈笋及子花有治疗崩中带下的功效^[1]。近几年来我们对于棕榈花蕾的作用进行一系列药理学研究,发现其对动物的离体和在体子宫平滑肌均有兴奋作用^[2]。目前关于棕榈花蕾抗生育作用的研究较少,本文将观察并探讨棕榈花蕾水提物对雌性小鼠的抗着床、抗早孕及避孕作用。

1 材料与方法

1.1 动物

健康成熟昆明种小鼠,体重 25~35g,雌性 90 只,雄性 45 只,购于山东鲁抗医药股份有限公司实验动物中心,给以普通饲料和清洁自来水。

1.2 药品

生理盐水购于山东鲁抗辰欣药业有限公司(批号:10070275);棕榈花蕾水提取物,药理实验室制备。

1.3 仪器

分析天平,北京赛多利斯系统仪器有限公司;FW135 型中药粉碎机,天津市泰斯特仪器有限公司。

1.4 方法

1.4.1 药物制备方法 棕榈花蕾采自本学院中草药种植中心,经鉴定后,取干燥棕榈花蕾若干,用 FW135 型中药粉碎机粉碎,温水浸泡 30min,加热煮沸 30min,得第 1 次煎液;再加水加热煮沸 1h,得第 2 次煎液,合并 2 次煎液,用滤菌网过滤,加热

浓缩至 1g/ml 棕榈花蕾水提液,并分别稀释至 25g/100ml、50g/100ml 和 100g/100ml,放入冰箱备用。

1.4.2 棕榈花蕾水提物对小鼠的抗着床作用 小鼠以雌雄 2 : 1 合笼,每天早晨检查阴道,用小镊子张开阴门,将出现阴栓的雌鼠取出,作为妊娠的第 1 天,按日期分组饲养。阴栓(Vaginal plug)是某些啮齿类动物在交配后,随即形成的一种白色浆液性物质,堵塞在阴道至子宫颈的腔内。是检查动物已否交配的一种标志,将出现阴栓的当天算为妊娠第 1 天。其是由雄鼠精囊腺和凝固腺的分泌物在阴道内凝固而成的产物。小白鼠一般在交配后 4 ~ 5min 内形成。大的阴栓可凸出于阴道口,小的在阴道或子宫颈内,需要翻开阴道口才能查见。阴栓一般在交配后 1h 渐渐软化,经 16 ~ 24h 后脱落。但也有只存在 4 ~ 5h 的,而最多的可存在 48h 以上。将妊娠小鼠随机分为 4 组,即低剂量组(2.5g 棕榈花蕾生药/kg)、中剂量组(5g 生药/kg)、高剂量组(10g 生药/kg)、对照组。在妊娠第 1 ~ 4 天,低、中和高剂量组给予 3 种浓度的棕榈花蕾水提物 0.1ml/10g 灌胃,对照组给予生理盐水 0.1ml/10g 灌胃,每日 1 次。于妊娠第 12 天将小鼠颈椎脱臼处死、解剖,观察子宫中的胚胎数,计算妊娠抑制率(妊娠抑制率 = 未妊娠动物数/实验动物数 × 100%);取出卵巢、肾上腺、脾脏、胸腺,称重并计算其脏器指数(脏器指数 = 脏器湿重/体重 × 100)。

1.4.3 棕榈花蕾水提物对小鼠的抗早孕作用 小鼠以雌雄 2 : 1 合笼,每天早晨检查阴道,用小镊子张开阴门,出现阴栓的即为妊娠小鼠。将妊娠小鼠随机分为 4 组,即低剂量组(2.5g 棕榈花蕾生药/kg)、中剂量组(5g 生药/kg)、高剂量组(10g 生药/kg)、NS 组。在妊娠第 5 ~ 9 天,各组分别给予低、中和高剂量 3 种浓度的 AEPB 0.1ml/10g ig,米非司酮 10 mg/kg ih、NS 0.1ml/10g ig,每日 1 次。第 12 天颈椎脱臼处死、解剖,观察子宫中胚胎发育情况,计算流产率(流产率 = 流产动物数/妊娠动物数 × 100%);取出卵巢、肾上腺、脾脏、胸腺,称重并计算其脏器指数(脏器指数 = 脏器湿重/体重 × 100)。

1.4.4 棕榈花蕾水提物对小鼠的避孕作用 将雌性小鼠随机分为 4 组,即低剂量组(2.5g 棕榈花蕾生药/kg)、中剂量组(5g 生药/kg)、高剂量组(10g 生药/kg)、对照组。实验组按低、中、高剂量预先给予棕榈花蕾水提物 0.1ml/10g 灌胃,对照组给

予生理盐水 0.1ml/10g 灌胃,连续 3 天,每日 1 次。将 4 组小鼠分别与雄鼠以 2 : 1 比例合笼 1 周,合笼期间每天检查阴道,交配成功者分别取出分笼饲养,分笼后 12d 颈椎脱臼处死雌性小鼠,观察子宫有无胎仔^[2]。计算避孕率(避孕率 = 未妊娠动物数/实验动物数 × 100%)。

1.5 统计学方法
采用 SPSS 17.0 统计软件对数据进行分析。

2 结果

2.1 棕榈花蕾水提物的抗着床作用实验结果
解剖各组实验小鼠,发现对照组及给药组妊娠小鼠子宫直径粗,肉红色,有光泽,子宫角的胚胎呈串珠状,分布均匀,胚胎发育良好;给药组未妊娠小鼠子宫直径明显比对照组小,未见胚胎发育。各组间的妊娠抑制率比较结果见表 1。给药组与 NS 组脏器指数比较无明显差异,结果见表 2。

表 1 棕榈花蕾水提物对小鼠抗着床作用
实验结果(n=10,%)

组别	妊娠动物数	未妊娠动物数	妊娠抑制率
NS 组	9	1	10
低剂量组	4 *	6	60
中剂量组	1 *	9	90 * #
高剂量组	0 *	10	100 * #△

注: * 给药组与 NS 组比较, P < 0.01, # 各剂量给药组比较, P < 0.05; △高剂量与中剂量组比较, P > 0.05。

表 2 棕榈花蕾水提物对抗着床小鼠脏器指数的影响(n=10, $\bar{x} \pm s$)

组别	卵巢	肾上腺	脾脏	胸腺
NS 组	0.0235±0.004	0.0131±0.004	0.762±0.135	0.145±0.032
低剂量组	0.0251±0.006	0.0153±0.003	0.749±0.196	0.168±0.024
中剂量组	0.0249±0.007	0.0134±0.003	0.805±0.224	0.204±0.051
高剂量组	0.0241±0.008	0.0141±0.001	0.863±0.156	0.213±0.024

2.2 棕榈花蕾水提物对小鼠的抗早孕作用
解剖各种实验小鼠,发现对照组未流产小鼠子宫直径粗,肉红色,有光泽,子宫角的胚珠呈串珠状,分布均匀,胚胎发育良好。棕榈花蕾水提物各剂量组均可使早期妊娠小鼠流产率明显增加,流产小鼠子宫呈暗红色,宫腔内有淤血,未见明显胚胎,且子宫直径比对照组小。各组间的流产率比较见表 3。给药组与 NS 组脏器指数比较无明显差异,结果见表 4。

表 3 棕榈花蕾水提物对小鼠抗早孕作用
实验结果(n=10,%)

组别	妊娠动物数	未流产动物数	流产动物数	流产率
NS 组	9	9	0	0
低剂量组	10	6	4	25
中剂量组	9	3	6	66.7 * #
高剂量组	9	2	7	77.8 * # △

注: * 给药组与 NS 组比较, $P<0.01$; # 中、高剂量与低剂量组比较, $P<0.05$; △高剂量与中剂量组比较, $P>0.05$ 。

表 4 棕榈花蕾水提物对抗早孕小鼠脏器指数的影响(n=10, $\bar{x}\pm s$)

组别	卵巢	肾上腺	脾脏	胸腺
NS 组	0.0247±0.006	0.0128±0.0055	0.840±0.103	0.132±0.021
低剂量组	0.0242±0.003	0.0168±0.0026	0.753±0.334	0.146±0.039
中剂量组	0.0238±0.07	0.0130±0.003	0.867±0.236	0.132±0.098
高剂量组	0.0238±0.09	0.0139±0.0010	0.878±0.149	0.137±0.083

2.3 棕榈花蕾水提物对小鼠的避孕作用

解剖各组实验小鼠,发现对照组及给药组妊娠小鼠子宫直径粗,肉红色,有光泽,子宫角的胚胎呈串珠状,分布均匀,胚胎发育良好。给药组未妊娠小鼠子宫直径明显比对照组小,未见胚胎发育。各组间避孕率比较见表 5。

表 5 棕榈花蕾水提物对小鼠的避孕作用(n=10,%)

组别	妊娠动物数	未妊娠动物数	避孕率
NS 组	9	1	10
低剂量	4	6	60
中剂量	0	10	100 * #
高剂量	0	10	100 * # △

注: * 给药组与 NS 组比较, $P<0.01$; # 中、高剂量与低剂量组比较, $P<0.05$; △高剂量与中剂量组比较, $P>0.05$ 。

3 讨论

生殖过程中,受精卵在母体子宫中经过着床、分化等过程,最终发育成一个成熟的胎儿。胚泡植入子宫内膜的过程称为着床。小鼠交配后孕卵在输卵管中运行 3d,4~5d 后进入子宫开始植入。在妊娠第 1~4 天,给予棕榈花蕾水提物灌胃,对照组给予生理盐水灌胃,12d 后处死小鼠并解剖,发现低剂量、中剂量、高剂量棕榈花蕾水提物分别使小鼠着床抑制率达 60%、90%、100%。提示棕榈花蕾有明显的抗着床作用。且随剂量增加,对着床的抑制作用也明显增强。

早孕是指受精卵在子宫壁着床后而开始妊娠的阶段,大约为妊娠第 6~9 天。在此时间段,低、中、高剂量组给予棕榈花蕾水提物灌胃,对照组给予生理盐水灌胃,结果发现低、中、高剂量棕榈花蕾

水提物对早期妊娠小鼠致流产率分别为 25%、66.7%、77.8%。中、高剂量组的棕榈花蕾水提物在小鼠交配前给药,能使小鼠的避孕率达 100%,提示其能产生良好的避孕作用。

棕榈花蕾水提物具有明显的抗着床、抗早孕和避孕作用,结合本课题组其他研究结果,分析其作用机制如下:1)棕榈花蕾水提物对离体^[3]和在体^[4]子宫均有兴奋作用,从而影响了子宫平滑肌的正常活动,阻碍受精卵着床,并使着床后的受精卵不能正常发育,导致流产。2)用 Elecsys2010 仪器测定家兔血液中 T3、T4、雌激素、孕酮的含量。结果显示棕榈花蕾水提物能使 T3 水平降低,孕酮含量升高。棕榈花蕾水提物明显降低 T3 水平,降低甲状腺功能,引起 FSH(卵泡刺激素)减少,继而影响子宫内膜的周期性变化,使子宫上皮细胞 RNA 合成降低,致使胚泡着床能力减弱,表现为妊娠生育力低下,影响到胚胎着床后的发育则出现流产、死产和胚胎、仔鼠发育不良等。甲状腺功能减退可导致性腺功能发育迟缓,影响性功能,并可引起月经过多,经期延长,不易受孕,严重时引起闭经、无排卵或不孕。孕激素水平升高使子宫颈口闭合,黏液减少变稠,拉丝度减弱甚至消失,螺旋形的粘蛋白分子排列狭窄,精子不易穿透,并明显阻碍精子在宫颈黏液的运行,影响其活力和寿命,阻止受精卵的形成。胚激肽为着床前子宫液中的一种特殊性蛋白,过多孕激素能过早诱导胚激肽以至造成胚胎发育和已改变的子宫内环境间的不协调,阻碍胚泡发育和着床。孕激素水平升高对下丘脑产生负反馈作用,抑制垂体分泌 FSH 和 LH,产生抑制排卵的作用。

棕榈花蕾水提物对子宫的兴奋作用和降低 T3、升高孕酮水平均是其产生抗生育作用的原因,至于其他抗生育机制有待于进一步研究。

参考文献:

[1] 李时珍.本草纲目[M].2 版.北京:人民卫生出版社,2004:1935-1935.
[2] 徐淑云,卞如濂,陈修.药理实验方法学[M].3 版.北京:人民卫生出版社,2002:1572-1573.
[3] 刘善庭,王清,李健美,等.3 种棕榈花蕾提取液对大鼠离体子宫平滑肌作用的比较研究[J].济宁医学院学报,2003,10(4):228.
[4] 齐汝霞,张鹏,王传功,等.棕榈花蕾水提物对动物在体子宫平滑肌的作用[J].济宁医学院学报,2011,34(1):14-16.

(收稿日期 2013-06-11)