

以蘇木做陰道殺精劑的體外實驗評估

江漢聲 張同德 陳慧敏* 楊玲玲*

摘 要

我們先前的研究從五十種中藥篩選出蘇木為有效的精蟲活動抑制劑；在進一步純化蘇木之成分的同時，我們也以蘇木萃取液做更精密的殺精劑評估。在實驗室中我們發現蘇木能抑制各種不同活動力的精蟲，所以適用於不同生育力的男性做為體外避孕劑；至於最低有效濃度，仍待進一步的討論。目前發展的女性避孕陰道泡綿，蘇木也可做為併用的陰道殺精劑，在我們初步的實驗中發現蘇木在不同的子宮頸液中仍有殺精作用，所以在女性陰道中是有效的殺精劑；進一步的人體使用評估正在進行中。

在我國邁入優生保健時代的今天，尋找一項理想有效的避孕方法是當務之急；就目前民衆使用最多的幾項方法，如女性口服避孕藥會有一些副作用、子宮內避孕器的異物排斥、結紮的接受率不高、保險套病人常抱怨麻煩與不舒適，都不盡理想，因此，發展理想的暫時性避孕方法，尤其是男性避孕藥，更是新穎且甚有前途的國計民生研究。

完美的男性避孕藥而言，必須有可長期使用、安全、副作用小、可回復性的特點，但目前西藥尚未有十全十美的藥劑，我們希望在中國傳統藥材中，找出令人滿意的答案，所以，本研究有系統有方法地應用西方科學研究方式去篩選中藥中可能有效的藥材，除了發揚中藥的使命感外，中藥給中國人民特別的信任與其自然無害於人體的優點，更是我們研究動機的來源。

本研究繼先前 50 種中藥單方初步篩選的結果⁽¹⁾，以蘇木為理想藥物⁽²⁾，作為體外抑制精蟲活力的定量實驗，並進一步以模擬女性體內

狀況做對照實驗，另外也選擇不同精液形態進行實驗，期望能建立一套可行的模式為後續研究提供參考和保證。

材 料

1. 藥材準備：本實驗的目標抑精劑為：蘇木(Caesalpinia sappan L.)

將蘇木以 50%酒精抽取，再低溫減壓、冷凍乾燥後，存於-20°C的冰箱中。(流程見圖一)實驗時，藥品用 F-10 溶液稀釋至所需濃度後，並調pH=7.8，離子濃度為：Na 140mmol/L，K 4.8 mmol/L，Cl 128 mmol/L，不含 Ca。

2. 精液取樣：

取健康強壯志願者之精液，在 1 小時內開始實驗處理程序

(1)篩選的正常標準：* 總量 > 2.5 ml

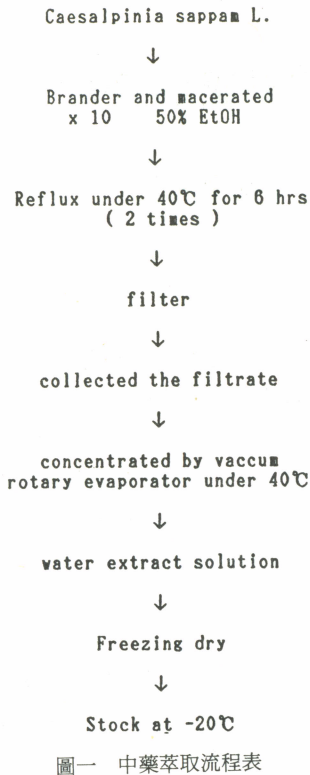
* 精蟲濃度 > 50 million/ml

* 活動指數 > 60%

* 畸型率 < 20%

台北醫學院 泌尿科 生藥學科*

民國七十九年十二月三十一日受理



方 法

1. 第一階段—蘇木殺精的正常樣本考驗 (in vitro) 設實驗組、對照兩組：

(1) 實驗組：符合篩選標準的樣本與 F-10 溶液混合、離心，並調整精蟲濃度為 40×10^6 / ml 來進行實驗。

取處理好的精液 100 ul 加入 100 ul 之蘇木抽取物溶液相混，其劑量分 4 種：2.00、3.00、4.50、6.75 mg/ml，然後放入 37°C 之 5% CO₂ incubator 中，分別在 5、10、15、20 分鐘置於 counting chamber 上計數。

(2) 對照組：步驟同上，唯中藥溶液以 F-10 溶液代之。(詳細實驗步驟見圖二)

2. 第二階段—模擬體內實驗 (in vitro)

實驗步驟同第一階段，唯以精蟲濃度較少的樣本代替正常樣本。

3. 第三階段—模擬體內實驗 (in vitro)

實驗步驟同第一階段，唯實驗組加入藥劑及對照組加入相對之 F-10 溶液時，同時加入有生育力婦女排卵期之子宮頸黏液以模擬體內生殖狀況。

評估標準

以 Motility Index 評估精蟲活動力^(3,4)，其公式如下：

$$M. I. = \frac{100 X + 75 Y + 50 Z}{100}$$

其中，Grade X：每 100 個精蟲中表現快速向前有力游動者之數目

Grade Y：每 100 個精蟲中表現慢速向前有力游動者之數目

Grade Z：每 100 個精蟲中表現原地有力旋轉擺動者之數目

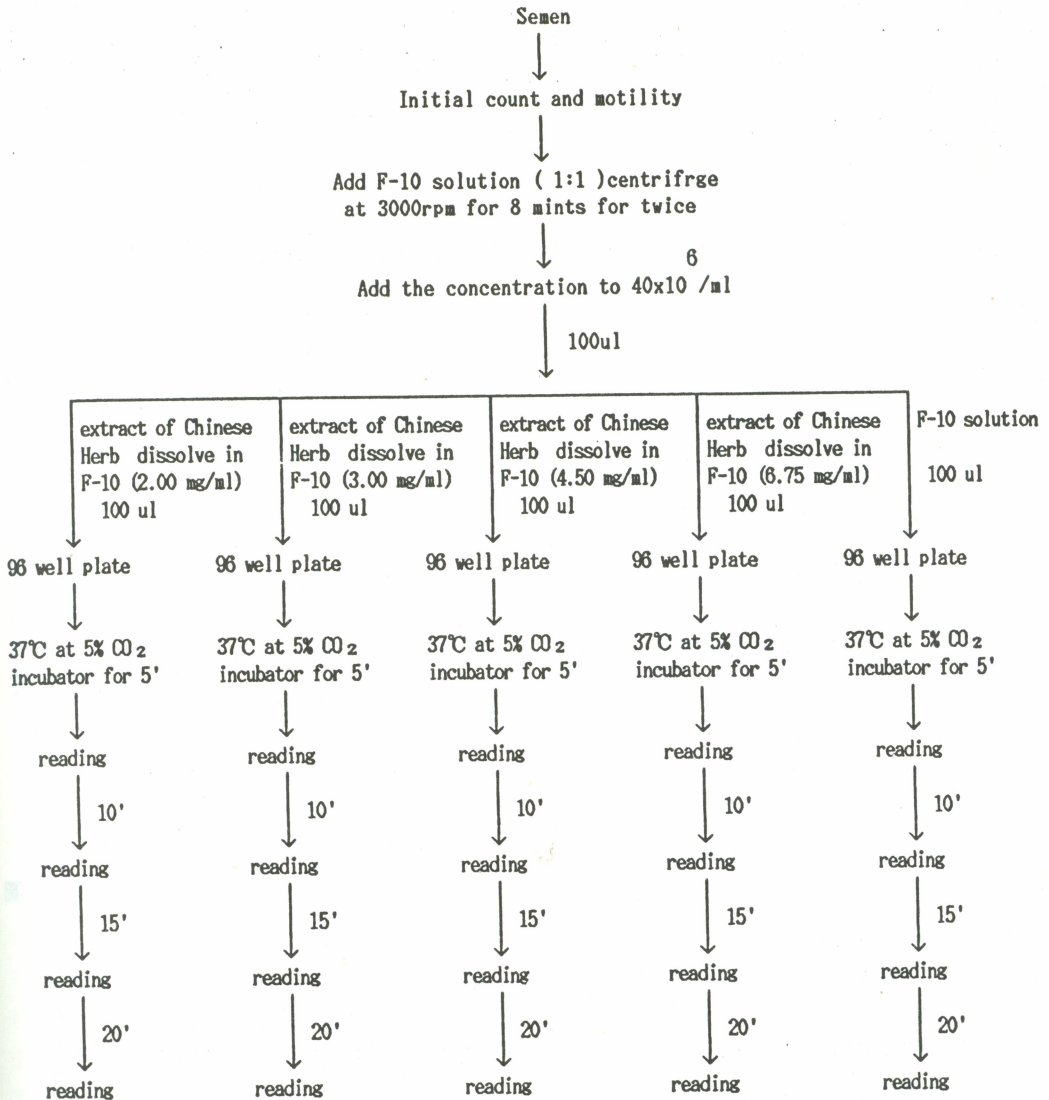
Grade O：每 100 個精蟲中表現原地靜止無任何活動者之數目

而且 M. I. 之讀取宜由同一觀察者依同樣標準判定，以減少個人誤差。

結 果

(1) 不同濃度的蘇木加入精液之後，抑制精蟲活動力的情形隨時間而漸明顯：見圖三。

例如以 3.00 mg/ml 之實驗來看：X Grade 在 5 分鐘內急速減少，活力減弱轉化為其他各級 (尤其是 Y grade)，5 分鐘之後絕對量已少，減少速度也慢多了；而 Y、Z、O 各 grade 在 5 min 內快速增加，應是由活力較強 Grade 減弱轉化而來，但其本身應也有部分活力減弱轉化為其他各級，5 分鐘後 Y、Z Grade 絕對量漸減，減少速度緩慢，唯 O Grade 仍快速增加；至於各級之最終數量則視劑量而定。



圖二 測試藥物對精蟲活動力影響的實驗流程

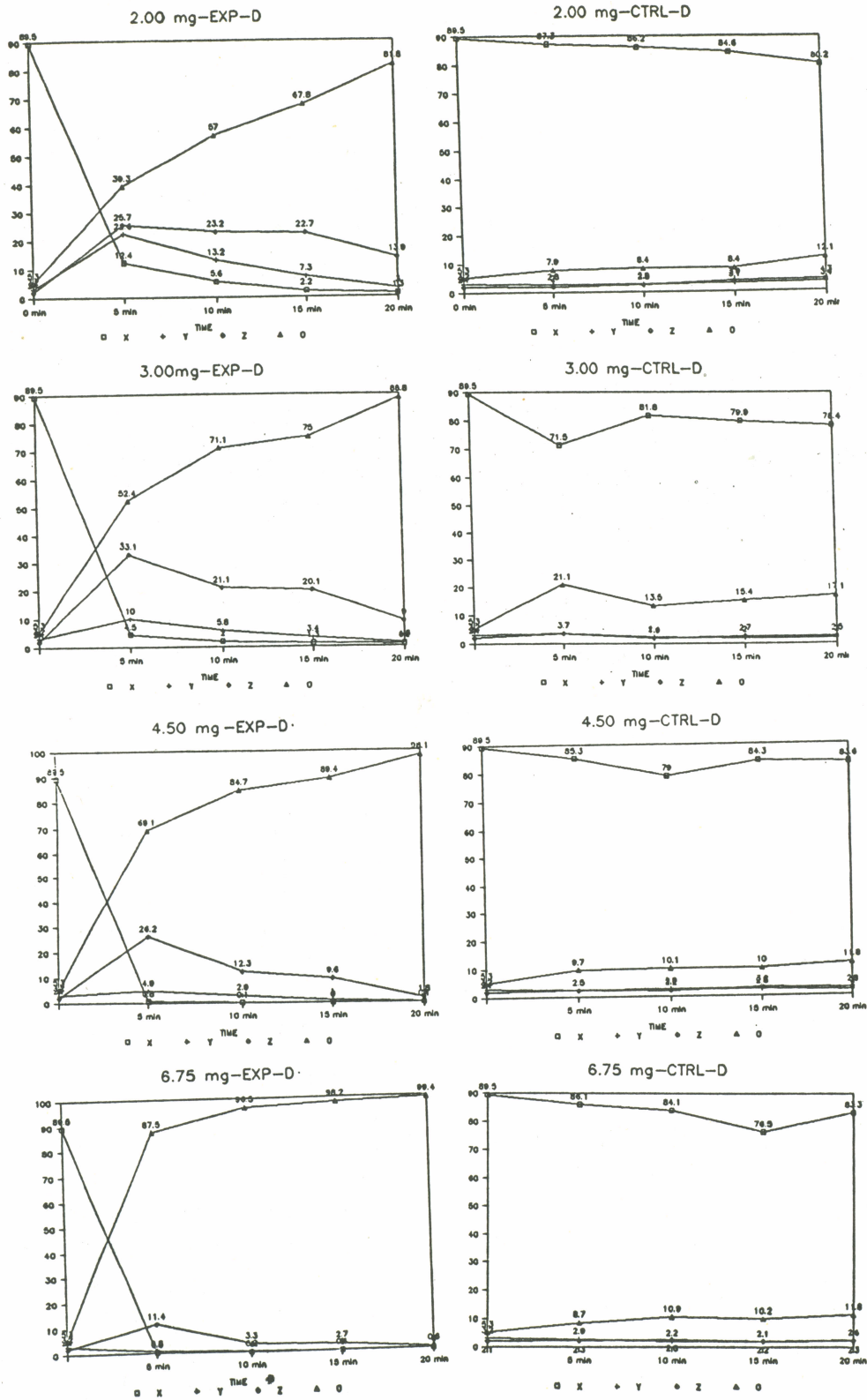
在蘇木濃度由低漸高時，精蟲活力減弱的速度與程度愈明顯，最終狀態也愈接近 0 grade，尤其 X Grade 在 5 min 內急速減少與活力減弱轉化為其他各級的速度遞增，分佈則愈偏向低活動，O Grade 在 5 min 內快速增加的量也漸增明顯，最終之量也呈遞增。

在相同狀況下之對照組則無相似變化，且實驗中幾乎沒有變化。

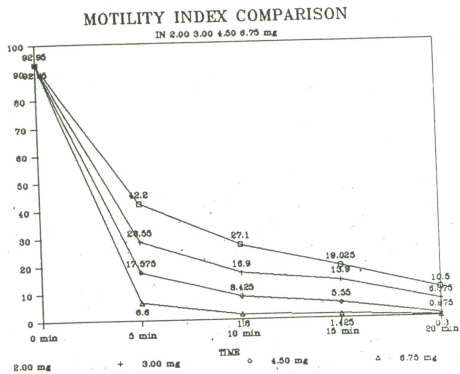
(2)不同濃度的蘇木對精蟲活動力指數

(Motility Index)的影響：見圖四-M. I. comparison

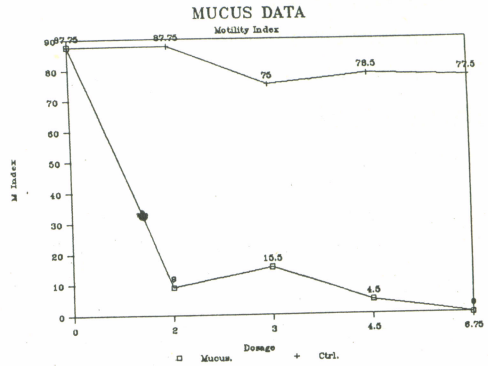
從圖上可看出各種濃度之下，指數皆隨作用時間變長而降低，唯初期幅度最大，以後越來越小，最終程度視劑量而定，各濃度變化曲線形狀相似，而且當濃度由低漸高時，精蟲活動減弱的速度與程度愈明顯，在各觀測時間皆獲證實，最終狀態也愈接近 O grade，然而在相同狀況下之對照組則無相似變化，且實驗中幾



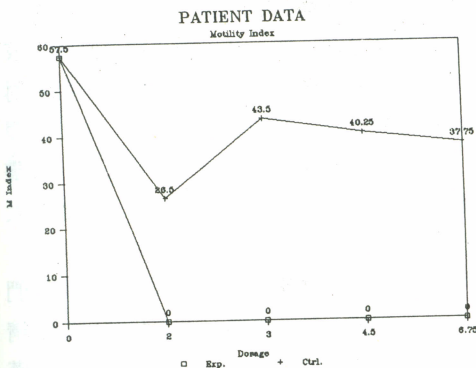
圖三 不同濃度的蘇木加入精液之後，抑制精蟲活動力的情形隨時間而漸明顯(詳細說明見次頁)



圖四 不同濃度的蘇木對精蟲活動指數 (Motility Index) 的影響 (說明參見文中)



圖六 將精蟲加入正常生育力之婦女子宮頸黏液中做實驗, 加入 2.0、3.0、4.5、6.75 四種不同濃度的蘇木 (實驗組), 並以加入 F-10 溶液做對照組, 所得結果發現實驗組的精蟲活動指數在五分鐘內均明顯下降。



圖五 以原本精蟲活動力較差 (精蟲活動力指數只有 57.7) 的樣本做實驗, 加入 2.0、3.0、4.5、6.75 四種不同濃度的蘇木 (實驗組), 並以 F-10 溶液做對照組, 所得結果發現實驗組的精蟲活動力指數在五分鐘之內均降至零。

乎沒有變化。

(3) 對原本精蟲活力較差病人的精液蘇木具有同樣的效果：因為有正常生育力的男人, 也可能有精蟲數較少或活動力較差的精液⁽⁵⁾, 所以我們選取一名精蟲濃度較少的病人為例, 其精蟲活動力指數只有 57.50, 以同樣方法實驗, 結果支持蘇木對精蟲力較差的病人應具有相同抑制精蟲活力效果的推論。(見圖五)

(4) 蘇木在子宮頸黏液中也有抑制精蟲活動的效果：我們從二名生育力婦女體內取出排卵期之子宮頸黏液和正常男性精液混合, 原本精蟲活動力指數為 87.85, 以同樣方法實驗, 結果仍支持蘇木對在模擬體內狀態的精液應具有相

圖三 左側由上而下四圖代表實驗組, 以不同濃度的蘇木 (2.0 mg、3.0 mg、4.5 mg、6.75 mg) 加入精液, 各種不同活動精蟲的分佈情形右測由上而下四圖代表控制組, 以 F-10 溶液加入精液, 各種不同活動力精蟲的分佈情形。兩組比較所得結果分析如下：

1. 實驗組中有快速活動力精蟲 (Grade X) 在五分鐘內明顯減少, 如左側四圖代表 Grade X 精蟲數之線條都急遽滑落, 而控制組中 Grade X 精蟲數並無改變, 如右側四圖中代表 Grade X 精蟲數之線條恆定於高處 80% 以上。這表示各種濃度的蘇木在五分鐘內可明顯抑制快速活動的精蟲。
2. 實驗組中不活動的精蟲 (Grade O) 隨時間一直增加至二十分鐘最高點, 如左側圖中代表 Grade O 精蟲數之線條都隨時間而上升, 至二十分鐘達最高點, 而其中又以左下圖最高濃度 (6.75 mg) 之蘇木表現最為突出, 在五分鐘內 Grade O 精蟲數就達 87.5%。同樣在控制組中 Grade O 精蟲數並無改變, 如右側圖四圖中代表 Grade O 精蟲數之線條恆定於底線 5% 左右。

同抑制精蟲活力效果的推論。(見圖六)

(5)實驗數據的統計分析：

1. 蘇木確有抑制精蟲活力的效果：推論肯定。由卡方考驗得... $P > 0.995$
2. 劑量越高效果越大：推論肯定。
由卡方考驗得... $P > 0.985$
3. 初探實驗支持蘇木對精蟲活力較差的病人應具有相同抑制精蟲活力效果：推論肯定。由卡方考驗得... $P > 0.995$
4. 初探實驗支持蘇木對模擬體內狀態應具有相同抑制精蟲活力效果：推論肯定。由卡方考驗得... $P > 0.995$
5. 實驗時間愈久本身亦降低精蟲活動：推論否定。由卡方考驗得... $P < 0.005$

討 論

(1)蘇木抑制精蟲活力的情形和作用時間有關：雖然前五分鐘精蟲活力因藥力而大減，但欲有滿意放心之效果，仍應有相當作用時間，所以將來臨床應用時，如能配合泡綿阻隔延長作用時間，將更為妥當，而這種抑制精蟲活力的效果，由實驗圖形的平行曲線得知，劑量是決定作用大小之重要因素，但是這些現象在每個個體也略有差別因此將來應進一步操作更高劑量(>6.75 mg/ml)之實驗，並取更多樣本，來加以評估：在多少劑量，多久時間之內，對大多數人的精蟲能抑制到有避孕效果為止，方是完整。

(2)由劑量對抑制精蟲活力效果大小的預估：

1. 公式：由 REGRESSION 而來

Dosage	MI	$MI' = \frac{MI \times 100}{92.95}$	$\text{Log}(MI')$
0.00	92.95	100.00	2.00
2.00	10.50	11.29	1.052
3.00	6.375	6.858	0.836
4.50	0.975	1.048	0.020
6.75	0.30	0.322	-0.49

由以上的演算下得： $\text{Log}(MI') = -0.37 \times \text{劑量} + 1.898$

其中 Log 計算標準誤差為 0.162，劑量 Coefficient 計算標準誤差為 0.031，而 Degree of Freedom = 3

2. 100% 殺精劑量的預估：

$$\text{Dose} = \frac{1.898 - \text{Log}(MI')}{0.37}$$

99% = 10.781 mg/ml (殺精 99% 所須劑量)

99.99% = 16.186 mg/ml (殺精 99.99% 所須劑量)

(3)根據臨床醫師的經驗。正常生育力男性的精液形態並非一致，有可能見精蟲數較少或活動力較差的情形，本研究以實驗證明蘇木對精蟲活力較差病人有同樣的抑制力，所以在理論上對精蟲活力較差的男性，蘇木應該有避孕效果，這個實驗未來應將樣本數加大，並擴大病人種類，以進一步求證。

(4)要將蘇木實驗用於人體實驗之前，我們先在體外模擬人體的情形，以觀察蘇木抑制精蟲活動力的效果，雖然婦女子宮頸黏液量少(僅不到 0.5 ml)、成份隨生殖週期變化，非常黏稠(因此黏液之量取與轉移非常困難)等特性，使實驗變得相當困難，但子宮頸黏液實驗時仍不應為實驗方便而以酵素分解，此原因之一為物理因素：子宮頸黏液非常黏稠具物理障礙之性質，且其造成之藥劑分佈不均之特性是將來實際應用必須考慮試驗之重要因子，二為化學因素：子宮頸黏液中可能含有影響精蟲活力以及影響藥劑作用的成份，若以酵素分解，可能同遭分解而變性，導致錯誤判斷，且應以婦女排卵期之子宮頸黏液為實驗對象：一因受孕發生於此期，二因此期子宮頸黏液量最多，影響較大。結果實驗數據顯示：(見表一)蘇木在子宮頸黏液中抑制精蟲活動力的效果，與沒有加子宮頸黏液實驗結果相似，這個實驗未來也應將樣本數加大，並擴大病人種類，以觀察不同狀況的子宮頸黏液中，蘇木對精蟲活動力的抑制

表一 以四種不同濃度的蘇木(2.0、3.0、4.5、6.75 mg/ml)加入正常男人精液(實驗組)和加入混合正常生育力婦女子宮頸液(加入子宮頸黏液組)之後，精蟲活動力指數的變化情形；控制組則加入F-10 溶液。

試劑 濃度 組別	2.00	3.00	4.45	6.75 mg/ml
實驗組	10.25*	3.00	0.00	0.00
加入子宮 頸黏液組	9.00	15.50	4.50	0.00
控制組	87.75	75.00	78.50	77.50

* 精蟲活動指數(MI)，詳見文中評估標準

是否有所差異。

參考文獻

1. Chiang HS, Yang LL, Chen HM, et al :
Effects of Chinese Herbal Medicines on the

Human Sperm Motility-evaluation of the in Vitro Study J Urol ROC 1(1); 24-33, 1990

2. Shih IM, Chiang HS, Yang LL, et al :
Antimotility Effects of Chinese Herbal Medicines on Human Sperm. J Formosan Med Assoc 89; 466-469, 1990

3. Okamura N, Tajima Y, Ishikawa H, et al:
Lowered Levels of Bicarbonate in Seminal Plasma Cause the Poor Sperm Motility in Human Infertile Patients. Fertil Steril 45; 265-272, 1986

4. Sharman D, Chantler E, Dukes M, et al:
Comparison of the Action of Nonoxynol-9 and Chlorhexidine on Sperm. Fertil Steril 45; 259-264, 1986

5. Chiang HS, Huang SH, Chuang SM, et al:
Analysis of 110 Patients with Total Azoospermia. J Surg Assoc R. O.C. 19(2); 152-162, 1986

Caesalpinia Sappan as a Vaginal Spermicidal —in Vitro Evaluation

Han-Sun Chiang, Tung-Teh Chang,
Huei-Min Chen* and Ling-Ling Yang*

ABSTRACT

Caesalpinia sappan extract from a study of screened chinese herbal medicines was found to be a potent agent for the inactivation of human sperm in vitro. The antimotility effect of Caesalpinia sappan is concentration-dependent, however, the exact dose required to reduce motility to 100% the control medium is hard to be determined. This effect of sperm inactivation was also remarkably noted in the semen of oligozoospermia.

The experiment was repeated using human cervical mucus as a special medium. The motility of the sperm was found to be suppressed by Caesalpinia sappan as well in human cervical mucus with variable viscosity. Our study suggested that Caesalpinia sappan had the effect of sperm inactivation for different semen, and also in human cervical mucus. It could be a good vaginal spermicidal and used as a contraceptive in vaginal sponge. Further study in vivo concerning the effect and side effect of Caesalpinia sappan as a vaginal contraceptive should be done before clinical application.

Key words: Caesalpinia sappan, Sperm inactivation, Cervical mucus, Vaginal contraceptive.