

某些脂溶性螯合剂在大鼠附睾尾囊内的杀精子作用

于宗瀚 (中国科学院上海生理研究所, 上海 200031)

提要 用孤离大鼠附睾尾的方法, 使药物与精子在此附睾尾囊内温育 2 d, 以筛选杀精子剂. 发现具有螯合作用的脂溶性化合物——水杨醛, 邻香草醛和 8-羟基喹啉——与棉酚一样, 能直接在附睾尾囊内杀死精子. 但长期口服这些螯合剂, 则不能象棉酚那样产生杀精子的效应. 水溶性螯合剂无直接杀死精子的能

力.

关键词 脂溶性螯合剂; 杀精子剂; 附睾尾; 水杨醛; 邻香草醛; 8-羟基喹啉; 棉酚; 二巯基丙醇

1981年10月30日收稿 1982年2月10日修回

从化学结构上说,棉酚是一个金属螯合剂.假使棉酚的灭精作用决定于其8位的醛基和7位的羟基,则有类似结构的螯合剂也应具有灭精作用.再进而问,结构全然不同的螯合剂有无灭精作用?本文即在于验证这一设想.

材 料 和 方 法

实验动物是集群繁殖的成年 ♂ 大鼠和小鼠.

脂溶性螯合剂包括:棉酚(上海市粮油工业公司油脂研究室,含量100.03%)、水杨醛(上海试剂一厂,含量 $\geq 95.0\%$)、邻香草醛(朱应麒副教授赠)、8-羟基喹啉、(Eastman Kodak Co.)、二巯基丙醇(中国医药工业公司武汉制药厂,10%灭菌油溶液).非脂溶性螯合剂包括:乙二胺四乙酸二钠($\text{Na}_2\text{-EDTA}$)、硫脲、二乙三胺五醋酸盐($\text{CaNa}_3\text{-DTPA}$)、2,3,4-三羟基苯甲醛(中国科学院上海药物研究所中间工厂提供)和二巯基丁二酸.除水溶性螯合剂用水配制外,其它试剂均以冷餐油为溶媒.

参照文献(1)在麻醉下通过外科手术隔离了41只成年大鼠两侧附睾尾(图1).切开阴囊,在附睾中、下段之间,靠近下段处用丝线结扎.另一个结扎在通向输精管处,结扎时避开主要血管.用4号注射针向一侧附睾尾囊注射药物,以另一侧附睾尾囊为对照.在试验脂溶性化合物时,向对照侧注射等量的冷餐油;在试验非脂溶性化合物时,向对照侧注射0.9% NaCl 溶液.完毕后缝合阴囊.2d后剖杀,

镜检附睾尾囊内精子的活动情况.将脂溶性螯合剂通过胃管给28只小鼠和26只大鼠 ig, 经历40d(星期日不ig)后,镜检附睾尾精子的存活情况.

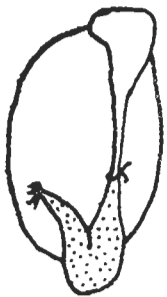


Fig 1. Pouch of cauda epididymis in rat

结 果

某些脂溶性螯合剂的杀精子作用 除个别说明外,

把化合物溶于冷餐油,使浓度为2%.向大鼠一侧孤离的附睾尾囊内注射入0.05 ml.对照侧注射入0.05 ml冷餐油.历时2d后剖杀大鼠,依次镜检附睾尾囊下、中、上三部分的组织涂片,以观察精子的存活情况.在这样的条件下,对照侧附睾尾囊中的精子活动度基本不受影响.本文内把活动正常的精子称之为“活”的(alive),而将不动的精子称之为“死”的(dead).结果见表1.

棉酚、水杨醛、邻香草醛和8-羟基喹啉都可以很有效地杀死精子.与水杨醛或邻香草醛结构类似而不具有螯合能力的香草醛、对二甲氨基苯甲醛、愈创木酚、苯胺和苯甲醇则全然不能杀死精子.不具有苯环的脂溶性螯合剂,二巯基丙醇(BAL),也具有杀精子作用,但效果差些.至于二巯基丁二酸,虽然与二巯基丙醇结构类似,但脂不溶,全然无杀精效果.

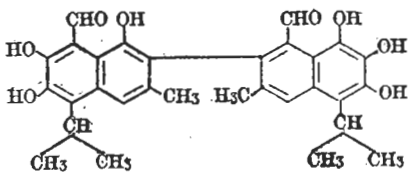
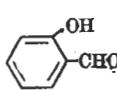
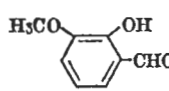
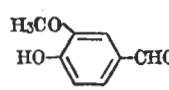
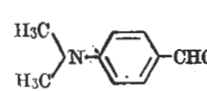
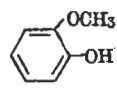
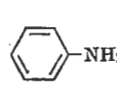
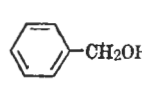
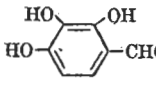
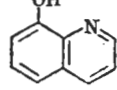
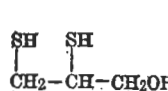
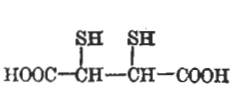
水溶性螯合剂无杀精子作用 将水溶性螯合剂溶于水中,使浓度为2%.注射0.05 ml于孤离的大鼠附睾尾囊.对照侧注射0.05 ml 0.9% NaCl.实验也是历时2d.结果表明, $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ 、硫脲和 $\text{CaNa}_3\text{-DTPA}$ 均不能直接杀死精子.即使DTPA溶液的浓度高达15%,对精子也无影响.

水杨醛、邻香草醛或8-羟基喹啉 ig 40 d 对小鼠和大鼠精子的影响 配制8%的水杨醛、邻香草醛或8-羟基喹啉的冷餐油溶液给小鼠和大鼠 ig (ig 前稍加热,以使螯合剂溶解),每周6次.小鼠的剂量是0.2 ml(16 mg)/mouse/d;大鼠的剂量是0.5 ml(40 mg)/rat/d.对照鼠 ig 相应量的冷餐油.

小鼠 ig 8-羟基喹啉,7只小鼠于2周内相继死去.ig 水杨醛和邻香草醛的小鼠,每组7只.实验中途各死去2鼠.存活鼠的体重增长似不受这些化合物的影响.40d后附睾尾内精子也与对照的相同.这表明水杨醛与邻香草醛均不使小鼠灭精.

水杨醛与邻香草醛的2组大鼠, ig 40 d后,体重的增长率较对照组稍差,附睾尾精子

Table 1. Spermatocidal test of 12 compounds in caudae epididymides

Compounds	Structural formulae	Rats	Sperms
Gossypol		13	dead
Salicylaldehyde		2	dead
<i>o</i> -Vanillin		2	dead
Vanillin		3	alive
<i>p</i> -Dimethylamino-benzaldehyde		3	alive
Guaiacol		3	alive
Aniline		4	alive
Benzyl alcohol		2	alive
2,3,4-Trihydroxy-benzaldehyde (suspended in salad oil)		2	alive
8-Hydroxyquinoline		3	dead
2,3-Dimercapto-1-propanol (BAL)		2	Not all dead, survivors having poor motility
Dimercaptosuccinic acid (suspended in salad oil)		2	alive

的活动度如常,未受影响。ig 8-羟基喹啉的大鼠,体重的增长受到些抑制。6鼠中有2鼠因不能耐受而于第1,2周时死去。第14天时又补充2鼠。最后,6只 ig 26-40 d 的大鼠,体质孱弱,尾巴上有明显的黑色块状斑纹。其中2鼠附睾尾内的精子多而活跃,与对照组的相似。其它4鼠的精子活动度差,不动的精子也为数很多,甚至不活动的比活动的精子还要多。这些情况在服水杨醛与邻香草醛的两组是看不到的。

讨 论

王等认为棉酚结构上的 CHO 基与 OH 基,一旦用其它基团取代,即失去抗生育作用⁽²⁾。棉酚的一侧结构上就有3个 OH 基,该文作者没有说明是哪个羟基。从其所用的18个棉酚衍生物可以看出,如果把棉酚上8位的 CHO 基改换成不能与7位上的 OH 基构成螯合剂的基团,则失去抗生育作用。化学上在考虑棉酚的金属络合物时也注目于-CHO 与其邻位的-OH⁽³⁾。因此,如果棉酚的灭精机制是与两价金属离子有关,则8位的醛基与7位的羟基可能是关键性的基团。据此,我们设想,水杨醛的结构是苯环上有相邻的 CHO 与 OH 基。邻香草醛也如是。实验结果表明两者都和棉酚一样,能直接杀死大鼠附睾尾内的精子。如果-CHO 与-OH 分布在苯环的对位,如香草醛,

即全然不能杀死精子。如果苯环上只有1个-CHO, 如对二甲氨基苯甲醛, 或只有1个-OH, 如愈创木酚, 则均无杀精子作用。因此, 对这类化合物来说, 看来苯环上相邻的-CHO与-OH是杀精子的决定性部位。

从结构上推论, 2, 3, 4-三羟基苯甲醛应有杀精子作用。但它既不溶于油, 也不溶于水。将之混悬于油中, 注入附睾尾囊, 并不导致杀精。这表明脂溶性是杀死精子的重要条件, 因为脂溶性的物质较易于透过细胞膜而进入细胞内。本工作中所用的3个水溶性螯合剂——EDTA、硫脲和DTPA都不能杀精子, 看来是由于它们不易进入细胞内的缘故。虽然于等⁽⁴⁾曾观察到给♂小鼠长期ip DTPA能造成睾丸缩小, 精子不能生成, 但那可能是由于DTPA使整个机体排Zn所使然。这与本文中使DTPA直接作用于精子的情况不同。况且, 即使长期ip大剂量DTPA, 也未能使♂大鼠的生精受损。

非苯环的脂溶性螯合剂显然也有杀精子作用。8-羟基喹啉的效果很显著, 而二巯基丙醇显得差些。这就提出了一些问题: 精子里究竟有哪些两价金属离子? 究竟螯合剂与什么离子结合能导致精子死亡? 表1中5种有杀精子能力的螯合剂是不是与同一种两价金属离子结合

而导致灭精? 这些问题尚待探索。

附睾尾囊的实验表明, 棉酚也有直接杀死精子的作用。这种方法可能为今后筛选类似棉酚这样的男用节育药提供了一种较简便的手段。即凡可在附睾尾囊内直接杀死精子的物质, 才值得进一步观察长期口服后的抗生育效果。这个方法比体外筛选杀精子法要方便, 因为1) 无须保温设备与条件; 2) 无须配制温育液; 3) 更重要的是不仅适用于水溶性的, 而且适用于脂溶性的杀精子剂, 而后者用离体的方法是难于进行的; 4) 螯合剂可能与温育液中的成分结合, 那么, 温育液中的杀精子效果究竟是螯合剂, 还是温育液成分的改变就难说清了。

致谢 朱应麒副教授提出宝贵意见。杨行忠同志赠送二巯基丁二酸。王志华与何爱雪同志给予技术协助

参 考 文 献

- 1 戴荣禧、董蓉花. 实验生物学报 1978年8月, 11(1): 15
- 2 王月娥、罗英德、唐希灿. 药学报 1979年11月, 14(11): 662
- 3 Ramaswamy HN, O'Connor RT. J Agr Food Chem 1969 Nov/Dec, 17(6): 1406
- 4 于宗瀚、王志华、张燕林、谢保乐. 生理学报 1980年1月, 32(1): 82

Acta Pharmacologica Sinica 1982 Dec; 3 (4): 260—263

SPERMATOCIDAL ACTION OF SOME FAT-SOLUBLE CHELATING AGENTS IN POUCHES OF CAUDAE EPIDIDYMIDES IN RATS

YU Zong-han (T H Yü)

(Shanghai Institute of Physiology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031)

ABSTRACT The rat cauda epididymis was made into a pouch by 2 ligatures. Such a simple operation was used for screening spermatocides. Fifteen different compounds were separately injected into the pouches, and the sperms in them were examined after 2 d.

Three fat-soluble chelating agents (salicylaldehyde, o-vanillin and 8-hydroxyquinoline), like gossypol, killed the sperms in cauda epididymis. However, unlike gossypol, they did not impair the

spermatogenesis after ig 40 mg/rat daily for 40 d except Sundays.

As a spermatocide, BAL was less effective than salicylaldehyde, o-vanillin, 8-hydroxyquinoline and gossypol.

Three water-soluble chelating agents (EDTA, DTPA and thiourea) did not kill the sperms directly.

KEY WORDS fat-soluble chelating agents, spermatocide, cauda epididymis, salicylaldehyde, o-vanillin, 8-hydroxyquinoline, gossypol, BAL