

棉酚对犬和猴的慢性毒性及其吸收、分布和排泄的研究

桑国卫 张寅恭 石其贤 沈康元 卢凤英 赵秀菊 王满琴 刘雪莉 袁玉英

(浙江人民卫生实验院药物研究所, 杭州)

提要 口服棉酚对犬与猴的慢性毒性有显著的差异。雄犬6只, 分别日服棉酚2~5mg/kg, 30天后出现心电图异常, 42天后有4只犬陆续死于心脏毒性。组织学检查可见有严重的心脏损害。存活犬在停药1年后心脏中毒的征象完全消除。雄猴3只, 日服棉酚4mg/kg, 连续2年, 所有测定的生化指标及心电图均无明显异常改变, 心、肝、肾等重要脏器亦无明显病变。犬与猴对棉酚的吸收与排泄速率有所不同。棉酚在猴体内吸收较差, 排泄较快, 而在犬体内则相反。这个现象可能是棉酚对犬与猴的毒性表现不同的原因之一。

关键词 棉酚慢性毒性; 棉酚代谢; 犬; 猴

棉酚系从锦葵科陆地棉 (*Gossypium hirsutum* L.) 的种子中提取的酚类化合物。经动物实验及临床观察, 证明棉酚对于男性具有肯定的抗生育作用⁽¹⁾, 但是达到一定剂量时, 对心、肝、肾等主要脏器有一定的毒性作用。由于棉酚对兔、大鼠、牛、羊、猪、鸡、犬等的毒性表现均不同^(1,2), 故进行有关棉酚的毒性及体内过程的研究, 具有重要意义。

本文报道棉酚对犬和猴的慢性毒性, 并结合棉酚在犬、猴体内的吸收、分布、排泄之间的关系进行初步探讨。

方法与结果

一、棉酚对犬的慢性毒性 雄犬6只, 体重12~16.5 kg, 分为3组, 每组2只。分别给予棉酚2、4和5 mg/kg(夹于肉或馒头内饲喂。棉酚由浙江省粮食科学研究所提供, 含量99%, 熔点178—186°C), 每日1次, 连续喂药40—81天。于给药前和给药期间观察犬的食量和一般情况, 定期称体重, 测定血红蛋白、白细胞数、SGPT、锌浊度、NPN、胆固醇和心电图。最终取主要脏器作石蜡切片和HE染色, 进行组织病理学观察(包括中途死亡动物)。

服棉酚2 mg/kg的2只犬(*1、*2), 在给药期间, 其活动、食量及体重均未发现明显变化, 但其中*1犬于给药第63天死亡, 服药总量1.73 g。*2犬服药81天, 停药后情况良好, 13个月后处死。

服棉酚4 mg/kg的2只犬(*3、*4), 在给药2个月左右, 食量略有减少, 体重下降。*3犬于服药71天后, 食量明显减少, 腹围增大,

1979年9月17日收稿 1980年3月24日修回
本文曾在1975年全国棉酚抗生育科研经验交流会上报告。

萎靡不振，立即停药（服药总量 4.36g）。该犬在停药第 6 天死亡，死前腹围明显增大，行动困难。解剖见腹腔有淡黄色积液 2000 多 ml；输精管及副睾未见有活动精子。*4 犬喂至 81 天，因食量减少而停药，在停药第 5 天夜间死亡（服药总量 4.62g）。

服棉酚 5mg/kg 的 2 只犬（*5, *6），给药半个月后出现食量减少、停药 1 天，以后改为每周服药 6 天，食量及活动未见异常，给药共 40 天。但 *6 犬于停药 2 天后死亡，解剖发现胃肠胀气，心脏略扩大。*5 犬停药后，食量及活动正常，于停药 40 天后处死，在输精管及副睾中均有大量活动精子。

以上各犬在给药期间及停药后的血象、肝、肾功能检查与给药前比较未见明显差异，其中 *1、*6 犬在死亡前 3—10 天的肝、肾功能检查仍属正常。

4mg/kg 组犬在给药一个月后，心电图有不完全性房室传导阻滞，T 波明显压低，变平，S-T 段抬高，R 波电压降低，并出现大的 Q 波，显示心肌受损的征象。给药二个月后，R 波电压仅达 0.1—0.12mV，出现心律失常及频发心室颤动，表明有严重的心肌损害。5mg/kg 组犬的心电图表现基本与 4mg/kg 组的相同。

2mg/kg 组犬，给药一个月后的心电图表现，主要为电压稍压低，S-T 段抬高，但程度较轻。给药二个月后，*1 犬心电图中的 R 波消失，频发心室颤动，亦显示有严重的心肌受损。*2 犬电压变低，有不完全性房室传导阻滞，T 波降低，S-T 段升高。

存活的 *2 犬（2mg/kg）及 *5 犬（5mg/kg）于停药一个月后，心电图逐渐恢复正常，仅见 S-T 段稍有抬高，其他无明显异常。*2 犬于停药半年及 1 年后，再作心电图检查，已完全恢复正常。说明棉酚在一定剂量范围内所引起的心电图改变是可逆的。

*3、*4 犬（4mg/kg）与 *6 犬（5mg/kg）的组织切片检查结果如下：

心肌纤维纵横纹普遍消失，部分胞浆空泡

变，核膜增厚，偶见心肌纤维的细胞核有浓缩现象，间质疏松水肿。肺泡壁毛细血管郁血，部分肺泡腔及少数支气管腔中充满淡红色的渗出液，但未见出血及炎症细胞浸润。部分肝小叶肝索轻度萎缩、断裂，肝细胞浊肿，偶见细胞核溶解。部分肝小叶的中央静脉及肝窦均明显扩张，枯氏细胞和毛细胆管未见明显变化。脾小结、小梁尚正常，脾窦中有较多棕褐色色素沉着。部分肾小球充血，肾小管上皮浊肿，管腔中可见淡红色的液体及少数脱落上皮。睾丸曲细精管的生精上皮细胞层次均有不同程度的减少，部分曲细精管上皮仅 1—2 层，偶见底层的精原细胞及支持细胞亦消失。生精上皮的有丝分裂很少见，且见核空泡变及核固缩与核溶解现象，管腔中很少或未见精子。但间质细胞无明显变化。

根据组织病理所见及心电图变化，日服棉酚 4mg/kg 及 5mg/kg 的犬，死亡原因很可能是棉酚引起的心肌重度变性所致。

剂量较低的 *1 犬（2mg/kg），上述脏器病变则较轻。停药后存活的 *5 和 *2 犬，心、肝、肺、肾、脑等均未见明显异常。*2 犬的睾丸也无异常，在 *5 犬睾丸曲细精管中可见各期生精细胞，管腔内有成堆精子，但各期生精细胞排列略有紊乱。

二、棉酚对猴的慢性毒性 雄性猕猴 7 只，给药前已在本院动物室饲养 2—3 年。第一批 2 只，*1 猴（7kg）、每日喂棉酚 4mg/kg，*2 猴（8.5kg）、每日喂棉酚 2mg/kg（棉酚系置于软糖块或水果中喂食），连服 3 个月为一个疗程，停药一个半月，再继续另一个疗程。两猴均给药四个疗程，停药 9 个半月后，由股动脉放血处死，进行肉眼及病理组织学观察。在给药前及给药各阶段还作了与犬实验同样的血象、肝、肾功能及心电图等检查。

第二批猴 5 只，体重 4—7 kg，随机分为两组，给药组 3 只（*13、*14、*15），每日喂棉酚 4mg/kg，每周喂药 6 天，连续给药 2 年。其余 2 只（*11、*12）为对照组。在给药前和给

药期间, 按时测定血清、尿中的 K^+ 、 Na^+ 、 Mg^{++} 和肌酐, 以及尿中的 SGOT、LDH 等。实验结束时处死动物, 进行肉眼和主要脏器组织学检查。

第一批两猴(*1、*2), 除 *1 猴于服药第 4 疗程末出现短时间下肢肌无力外, 在服药期间及停药后食量和活动均正常, 体重增加, 检查的各项生化指标均正常。

*1 和 *2 猴心电图检查仅见轻度心率变慢, R 波电压随用药时间延长而有轻度压低。*2 猴于第 3 疗程曾出现 S-T 段降低。

*1, *2 猴的组织学检查结果如下: 肝细胞轻度浊肿, 部分胞浆松化。*2 猴心肌有局灶性炎症。肾近曲小管上皮细胞轻度浊肿, 管腔内有少量嗜伊红色渗出液。个别支气管有慢性支气管周围炎, 肺泡内有吞噬含铁血黄素细胞。脾无明显病变。

第二批雄猴 5 只, 分给药组(*13、*14、*15)与对照组(*11、*12)。给药组在二年服药期间测定的各项离子及肝、肾功能指标与给药前比较, 均无明显变化, 结果已另文发表⁽⁴⁾。

上述 5 猴组织学检查结果如下: *14 猴心肌纤维间毛细血管轻度扩张, 肝窦轻度扩大, 肝索略变窄, 少数肝索有离断, 部分肝小叶中央的肝细胞浆内有一些小空泡, 肾近曲小管上皮浊肿。服药猴睾丸内曲细精管缩小, 绝大部分管壁仅有一层支持细胞, 精原细胞数量减少, 偶见初级精母细胞, 未见精细胞及成熟精子, 管腔内大多有嗜伊红色絮状物, 但 *14 猴近睾丸网处个别曲细精管内有各期生精细胞, 且有少量成熟精子。

对照组 2 只猴的组织学检查均未见异常。

三、棉酚在犬、猴体内吸收、分布和排泄
棉酚测定系采用柯一保等修改的 Smith 苯胺法⁽³⁾。

1. 犬和猴口服棉酚后, 在血清与粪中的浓度 结果见表 1。在给药期间, 上述慢性毒性实验犬与猴的粪中均含有高浓度的棉酚, 其水平远高于血清中的棉酚含量。每天从犬与猴

粪中排出的棉酚总量分别相当于每日口服剂量的 16~40% (喂药 40 天的 *5、*6 犬) 与 42~87% (喂药 3 个月的 *1、*2 猴)。此结果与文献报道 ^{14}C 棉酚在大鼠体内的吸收情况相类似⁽⁶⁾。

如将棉酚剂量为 4mg/kg/天的猴与 5mg/kg/天的犬相比较, 可以看出长期给药后血清中棉酚浓度犬>猴, 但粪中棉酚浓度却是猴>犬。提示棉酚在猴体内吸收较差, 排泄较快, 积蓄较少。

表 1 犬和猴口服棉酚后血清和粪中的含量

测定时间	编号	游离棉酚 (μg/g)		结合棉酚 (μg/g)		粪中每日排出总量 (mg)	
		血清	粪	血清	粪		
犬	给药 40 天	5	4.0	25.0	15.9	110.9	24.5
		6	4.9	15.7	18.3	65.8	9.6
	停药 40 天	5	0.5	9.3	5.2	72.9	9.9
猴	给药 2 个月	1	1.1	89.5	11.6	274.3	26.4
		2	1.5	48.0	10.0	215.7	17.0
	给药 3 个月	1	4.0	166.6	8.1	418.4	11.8
		2	3.9	103.7	9.4	272.7	14.8
	停药 1 个月	1	1.0	0	3.4	12.7	1.1
		2	0	0	4.7	17.9	1.7

注: 棉酚日剂量: *5、*6 犬为 5mg/kg; *1 与 *2 猴各为 4 和 2mg/kg。

2. 棉酚在犬、猴体内的分布 在停药后分别测定了 *5、*6 犬和 *13、*14、*15 猴的各脏器、血清和排泄物中的棉酚含量。结果见表 2、3。无论在犬或猴体内, 除胆汁外, 各主要脏器, 血清或粪、尿中的结合棉酚含量均显著高于游离棉酚, 但在犬和猴的胆汁中含有较高浓度的游离棉酚。胆汁中游离棉酚和结合棉酚两者的比值犬为 0.8—0.9, 猴为 2.7—6.9。说明胆汁是棉酚的主要排泄途径。各脏器中棉酚的含量犬依次为肝>脾>肾>肺>心>胆汁>睾丸>副睾>脑, 猴依次为肝>胆

汁>肾>心>脾>肠>睾丸>肺>胃>肌肉>脑。

*1、*2猴在停药一个月后,血清及粪中几无棉酚。但*5犬在停药40天后,血清、粪及脏器中仍有较多的棉酚存在。提示棉酚在犬

体内的积蓄可能较为明显。

无论在犬或猴体内,睾丸、副睾及脑中棉酚含量均很低,在长期给药后亦无明显积蓄。犬与猴的尿中棉酚含量也很低,分别为粪中含量的1/12及1/40,可见棉酚从尿中排泄甚少。

表2 犬口服棉酚(5 mg/kg/天×40)后在组织和排泄物中的分布

	停药天数	犬号	肝	肾	脾	肺	心	胆汁	脑	睾丸	副睾	尿	粪
游离棉酚 ($\mu\text{g/g}$)	2	6	12.2	8.5	2.2	6.3	5.0	9.3	1.5	5.6	3.9	0.7	22.2
	40	5	4.1	1.9	0.7	1.7	1.4	5.7	0	0			9.3
结合棉酚 ($\mu\text{g/g}$)	2	6	69.2	64.3	73.5	48.1	22.6	10.6	8.3	15.0	12.5	7.5	120.8
	40	5	51.5	16.0	32.5	16.7	35.9	7.6	6.2	5.6			72.9

表3 猴口服棉酚(4 mg/kg/天)二年后,在组织、血清和排泄物中的分布

	猴号	脑	血清	胆汁	肝	肾	心	胃	脾	肌肉	肺	肠	睾丸	尿	粪
游离棉酚 ($\mu\text{g/g}$)	13	0	0.6	20.0	0.4	1.8	1.1	0	4.1	0.4	1.2	0	0	0	4.1
	14	0	1.5	41.4	0.4	1.4	1.1	0	1.9	0	2.1	0	0	0	4.1
	15	0.4	0.9	44.1	0.4	2.1	1.9	2.6	0.7	1.5	2.2	0	0	0	2.8
结合棉酚 ($\mu\text{g/g}$)	13	1.9	6.6	6.9	58.9	8.1	14.1	3.3	9.9	2.4	1.8	4.5	6.5	4.7	159.8
	14	1.9	16.7	6.0	57.9	16.0	11.5	3.4	6.3	1.3	4.3	8.6	4.7	1.6	253.8
	15	1.9	8.2	16.6	63.0	15.2	10.9	2.6	9.6	3.4	3.2	6.4	6.1	4.7	206.8

讨 论

本文结果表明,雄猴每日口服棉酚4 mg/kg(相当于人的临床剂量20 mg/天的10倍)连续2年,对肝、肾功能无影响,心、肝、肾等重要脏器除*14猴有轻微变化外,均无明显异常。但犬服棉酚2~5 mg/kg/天1个月后,心电图出现明显变化,随给药时间延长,变化更加严重,并陆续出现死亡,可见对棉酚的毒性,犬远比猴为敏感。

对犬所作各项检查表明,除心电图有心肌受损的明显改变外,组织学检查显示心、肝和肾均有不同程度的损害。而棉酚损害心肌,导致心力衰竭或心跳骤停可能是犬死亡的主要原因。但亦应考虑棉酚对于肝脏损伤可导致解毒

作用的减弱,棉酚所致胃肠功能紊乱及肾脏损伤可引起水、电解质的紊乱,这些均可进一步恶化心脏功能,导致死亡。Roger⁽⁶⁾指出棉酚有抑制红细胞中氧血红蛋白的释氧能力;Munro⁽⁷⁾认为棉酚主要损伤肝、脑、心肌等对氧依赖性强的器官。本文结果与文献报道是一致的。

对棉酚在犬、猴体内吸收、分布、排泄的初步观察表明,口服棉酚后从肠胃内吸收较差,犬与猴对棉酚的吸收、排泄有所不同。犬的吸收率高于猴,而排泄速度低于猴。因而犬的血中棉酚浓度比较高,而粪中含量比猴低。实验结果也提示棉酚在犬体内的积蓄程度较猴为高,这说明棉酚的药物动力学随动物品种而异,也可能是两者毒性表现不同的原因之一。

在犬的肝、肾、脾、肺、心等脏器中，棉酚有较高的含量，而且结合棉酚的含量高于游离棉酚。表明棉酚在体内主要以结合棉酚形式存在。只有胆汁中有较高浓度的游离棉酚，表明胆汁是主要排泄途径。猴的胆汁中不仅棉酚总量高，而且游离棉酚含量明显高于结合棉酚。在犬的胆汁中游离棉酚/结合棉酚之值为0.8—0.9，而猴的胆汁中游离棉酚/结合棉酚之值高达2.7—6.9。提示这可能与棉酚自猴体排泄速度较快有关。由于在各脏器中的积蓄以及胆汁在肠道的重吸收，推测棉酚在体内可能会有较长时间的滞留。

棉酚在睾丸内的含量很低，且停药后排泄较快，似乎在犬体内棉酚对睾丸选择性作用并不强。肝脏中棉酚含量最高，表明它是棉酚解

毒、代谢的主要部位，亦同棉酚主要通过胆汁排泄有关。由于棉酚在肝中积蓄较为明显，长期使用后对肝功能的可能影响似应引起重视。

参 考 文 献

- 1 男用节育药全国协作组. 中华医学杂志 1978年8月; 58(8):455
- 2 Eagle E. *J Am Oil Chem Soc* 1960 Jan; 37(1): 40
- 3 柯一保、林心楷、林秀媛、章月华、马玉珍、郁素娥、丁溶. 实验生物学报 1979年3月; 12(1): 69
- 4 石其贤、张寅恭、桑国卫、王满琴、沈康元、卢凤英. 药学通报 1979年4月; 14(2): 89
- 5 Abou-Donia MB, Dieckert JW. *Lipids* 1970 Nov; 5(11):938
- 6 Adams R, Geissmaw TA, Edwards JD. *Chem Rev* 1960 Dec; 60: 555
- 7 Munro IC, Salem FA, Hasnain SH. *Toxicol Appl Pharmacol* 1971 May; 19(1):62

Acta Pharmacologica Sinica 1980 Sep; 1(1):39—43

CHRONIC TOXICITY OF GOSSYPOL AND THE RELATIONSHIP TO ITS METABOLIC FATE IN DOGS AND MONKEYS

SANG Guo-wei, ZHANG Yin-gong, SHI Qi-xian, SHEN Kang-yuan, LU Feng-ying, ZHAO Xiu-ju, WANG Man-qin, LIU Xue-li, YUAN Yu-ying

(*Institute of Materia Medica, Zhejiang People's Academy of Experimental Hygiene, Hangzhou*)

ABSTRACT Great differences between the toxicities of gossypol in dogs and monkeys were seen. Daily doses of 2—5 mg/kg were given orally to 6 dogs. ECG manifested abnormalities 4 weeks after the beginning of the treatment, but the blood routine, hepatic function and renal function tests remained normal. Four dogs died of cardiac toxicity on days 42, 63, 77 and 86, respectively. Severe myocardial damages were noted histologically. In the dogs survived, their toxic cardiac signs and histological changes disappeared 1 year after withdrawal of gossypol.

In monkeys all biochemical parameters, ECG and activities remained normal

during oral medication period of 2 years at a daily dose of 4 mg/kg. Histological studies on livers, kidneys, hearts and adrenal glands revealed no difference between 3 treated monkeys and 2 control monkeys.

There were marked species differences of alimentary absorption and excretion of gossypol between dogs and monkeys. Gossypol was absorbed less and excreted more in monkeys than in dogs. Perhaps this is one of the reasons responsible for the higher toxicity of gossypol in dogs than in monkeys. The role played by the dietary constituents is still a matter of consideration. **KEY WORDS** chronic gossypol toxicity; metabolic fate; dogs; monkeys