

ارزیابی اثرات ضدباروری مردانه تری متوپریم و ۲ و ۴- دی آمینو - ۵ (۳ و ۴- دی کلروفنیل) ۶- ایزوپروپیل اکسی متیل پیریمیدین در موش صحرائی نر

دکتر حمیدرضا صادقی پور و دوسری*

چکیده

با توجه به مشکلات بی‌شمار ناشی از روند افزایش بسیار سریع جمعیت، مطالعه و کشف روشهایی که بتواند پائین آوردن نرخ رشد جمعیت این روند را دچار وقفه یا رکود سازند الزامی است. واضح است که بدون مشارکت عملی مردان برنامه‌های کاهش جمعیت نمی‌تواند موفقیت چندانی داشته باشد. در این بررسی اثرات ضدباروری مردانه مشتقات سنتز شده جدید از دسته دی‌آمینوپیریمیدینها بنام ۲ و ۴- دی آمینو - ۵ (۳ و ۴- دی کلروفنیل) ۶- ایزوپروپیل اکسی متیل پیریمیدین (IPO) و تری متوپریم (TRI) بر روی موشهای صحرائی نر مورد ارزیابی قرار گرفته است.

نتایج این بررسی نشان داد که این ترکیبات بدون ایجاد اثرات سمی مشخص و یا عارضه جانبی مهم و یا تغییر غلظت تستوسترون سرم میزان باروری را کاهش دادند. ضمناً IPO تحرک اسپرمها، درصد اسپرمهای زنده، طول اسپرم روزانه و میزان ذخیره اسپرم در اپیدیدیم را بطور معنی‌داری کاهش داد در حالی که TRI سبب کاهش معنی‌داری حرکت اسپرمها و میزان ذخیره آن در اپیدیدیم گردید.

کلید واژه‌ها: ۱- ضدباروری مردانه

۲- ایزوپروپیل اکسی متیل پیریمیدین

۳- تری متوپریم

مقدمه

در جهان امروز توسعه اقتصادی نیاز به جمعیت مناسب و با کارآئی بالا دارد. جمعیت‌های بزرگ انسانی بخودی خود در برنامه‌های توسعه ملی کارساز نیستند، بلکه میزان آموزش و تخصص آنها است که کارآئی‌شان را تعیین می‌نماید. متأسفانه در بسیاری از کشورهای جهان سوم بعلت رشد سریع جمعیت، همواره برنامه‌های توسعه اجتماعی و اقتصادی یک قدم و بلکه بیشتر از افزایش جمعیت عقب‌تر است. لذا پیشگیری و کنترل جمعیت یک ضرورت ملی است. خوشبختانه در حال حاضر این

دیدگاه که پیشگیری از بارداری صرفاً مسئولیت زنان است بتدریج تغییر می‌کند و اینگونه تحولات مثبت همراه با اطلاعات روزافزونی که در باره فیزیولوژی دستگاه تولیدمثل مردان حاصل می‌شود زمینه لازم را جهت تحقیقات وسیع و فشرده برای کشف و مطالعه عوامل ضدباروری مردانه ایجاد نموده است (۳ و ۶).

در دهه ۱۹۶۰ در کشور چین ادعا شد که مصرف طولانی مدت مواد غذائی پخت و پز شده با روغن حاصل

* دانشیار گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران

گروه فیزیولوژی و در شرایط استاندارد از نظر روشنائی، درجه حرارت، آب و غذا نگهداری شده و سپس بشرح زیر مورد آزمایش قرار گرفتند.

گروه اول: یک روز در میان بمدت ۶۰ روز تزریق زیرجلدی تری متوپریم 50 mg/kg ، ($n=18$).

گروه دوم: با همان روش و مقدار قبلی ترکیب ایزوپروپیل اکسی متیل پیریمیدین، ($n=16$).

گروه سوم: بعنوان شاهد که پروپیلن گلیکول را با همان روش قبلی دریافت می نمودند، ($n=8$).

بعد از گذشت ۶۰ روز از اولین تجویز دارو، هر موش نر را با سه موش ماده جوان و بالغ هم قفس کردیم تا عملاً توانائی باروری موشهای نر را بررسی نمائیم (*mating-test*) بعد از آخرین تزریق موشهای نر را پس از توزین بوسیله گیوتین کشته و خون آنها را بطور انفرادی در لوله های آزمایش تمیز جهت اندازه گیری هورمون تستوسترون سرم به روش رادیوایمونواسی (*RIA*) جمع آوری کردیم سپس شکم حیوان را باز نموده و اندامهای زیر را مورد مطالعه قرار دادیم:

۱- وازودفران جهت تعیین درصد اسپرمهای زنده (*Viability*) و همچنین درصد تحرک اسپرمها (*Motility*)

۲- بیضه ها بمنظور تعیین میزان تولید روزانه اسپرم (*Daily sperm production*)^(۲)

۳- اپیدیدیم جهت تعیین میزان ذخیره اسپرم (*Epididymal-sperm Reserves*)^(۱)

محاسبات آماری

محاسبات آماری و تعیین اختلاف معنی دار بین گروههای آزمایشی با گروه کنترل ($Mean \pm SEM$) از طریق آزمون *Student's T-test* انجام گرفت و حدخطای $P < 0.05$ به لحاظ آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

اثر بر میزان درصد تحرک اسپرمها (*Motility*) نتایج حاصل از بررسی میزان درصد تحرک اسپرمها نشان داد که تفاوت معنی داری بین تری متوپریم ($P < 0.05$) و

دانه های کتان باعث ایجاد ناباروری می شود، که این امر مشوق پیگیریهای بالینی وسیع در مورد اثر گوسپیول در ایجاد آزو سپرمی و اولیگوسپرمی گردید،^(۷) و مشخص شد که اثر آن بعلت تأثیر مستقیم و غیرمستقیم بر *DNA* پلی مرز و همچنین بر سنتز *DNA* در طول فرآیند اسپرماتوژنز می باشد،^(۸) ولی بعلت سمیت زیاد در اثر تجمع این ماده و عدم برگشت پذیری ناباروری بوجود آمده، استفاده از آن غیر قابل قبول شناخته شد.

پیریمتامین در کلینیک جهت پیشگیری و درمان مالاریا بکار می رود، اثر درمانی این دارو بر اساس مهار عمل آنزیم (*Dihydrofolate Reductase -DHFR*) است. این آنزیم در سنتز پیش سازهای اسید نوکلئیک و رشد سلول نقش کلیدی بعده دارد. تری متوپریم نیز که در درمان عفونتهای باکتریائی همراه با یک داروی سولفونامیدی استفاده می شود عمل خود را بطریق مشابه اعمال می کند.^(۴)

با توجه به اثرات ضدباروری پیریمتامین^(۲) و تشابه ساختمان شیمیائی تری متوپریم (همانند پیریمتامین از مواد دی آمینو پیریمیدینی است) در این مطالعه اثرات یکی از آنالوگهای آن با اسم شیمیائی ۲ و ۴-دی آمینو-۵- (۳ و ۴ دی کلروفنیل) ۶- ایزوپروپیل اکسی پیریمیدین (سنتز شده در دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران) بر روی فرآیند اسپرماتوژنز و باروری در موشهای صحرائی نر مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روشها

داروهای مورد استفاده عبارت بودند از تری متوپریم (تهیه شده از شرکت روزدارو با شماره ساخت (500 VTJ) و ۲ و ۴-دی آمینو-۵- (۳ و ۴ دی کلروفنیل) ۶- ایزوپروپیل اکسی متیل پیریمیدین (سنتز شده در دانشکده داروسازی). از پروپیلن گلیکول ساخت کارخانه *Merck* با شماره *Art: 822334* بعنوان حلال انتخابی استفاده گردید، حیوانات مورد آزمایش موشهای صحرائی نر از نژاد *Sprague-dawley* و در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم بوده^(۹) که پس از خریداری از انستیتو رازی (حصارک کرچ) بمدت دو هفته در حیوانخانه

ایزوپروپیل اکسی (P<0/001) نسبت به گروه شاهد وجود دارد. (نمودار شماره ۱)

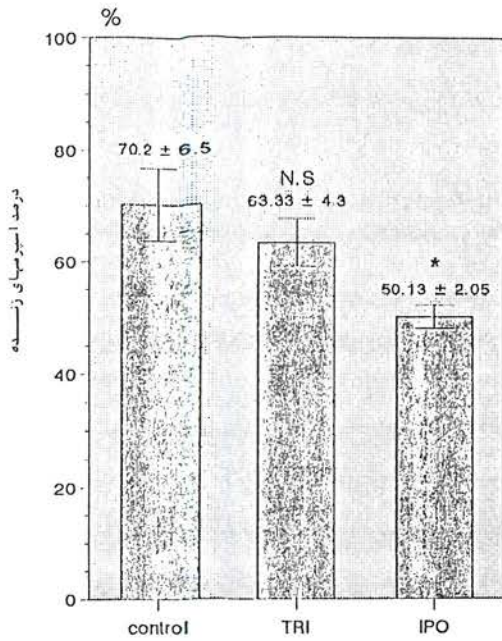
اثر بر میزان درصد اسپرمهای زنده (Viability)

فقط ایزوپروپیل اکسی بطور معنی داری (P<0/001) تعداد اسپرمهای زنده را کاهش داد در حالی که ترومتوپریم تأثیری نداشته است. (نمودار شماره ۲)

میزان تولید روزانه اسپرم توسط بیضه‌ها بوسیله ایزوپروپیل اکسی بطور معنی داری (P<0.05) کاهش یافت ولی تری متوپریم اثر معنی داری بر روند اسپرماتوژنز نسبت به گروه شاهد نداشت (نمودار شماره ۳)

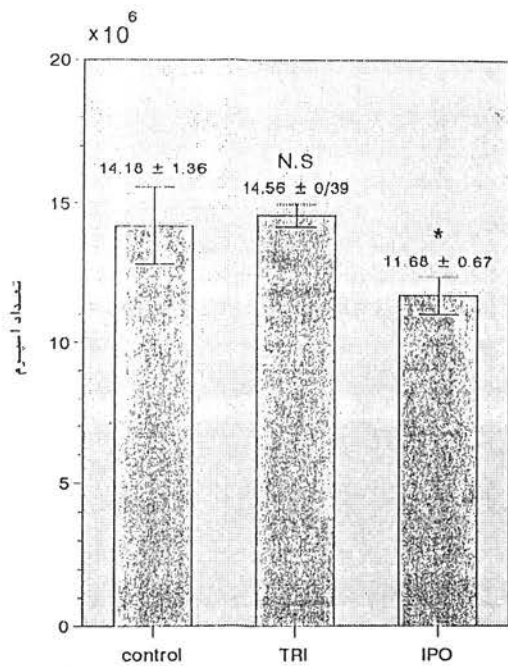
اثر بر میزان ذخیره اسپرم اپیدیدیم (ESR)

نتایج حاصل از بررسی میزان ذخیره اسپرم به ازای هر گرم اپیدیدیم نشان داد که در هر دو گروه اول و دوم نسبت به گروه شاهد بطور معنی داری کاهش یافته است. لیکن در گروه ایزوپروپیل اکسی P<0.05 و در گروه تری متوپریم P<0.001 بوده است (نمودار شماره ۴).



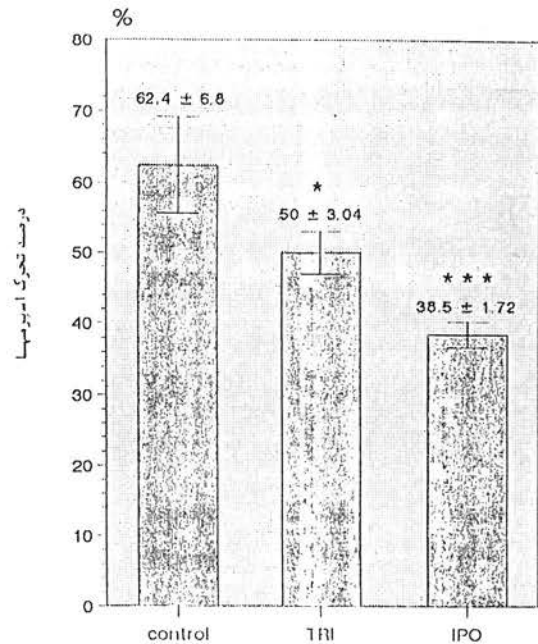
NS= Non Significant
* Significant at P<0.001

نمودار ۲- اثر تری متوپریم (TRI) و ایزوپروپیل اکسی متیل پیریمیدین (IPO) بر زنده ماندن اسپرمها در موش صحرائی نر



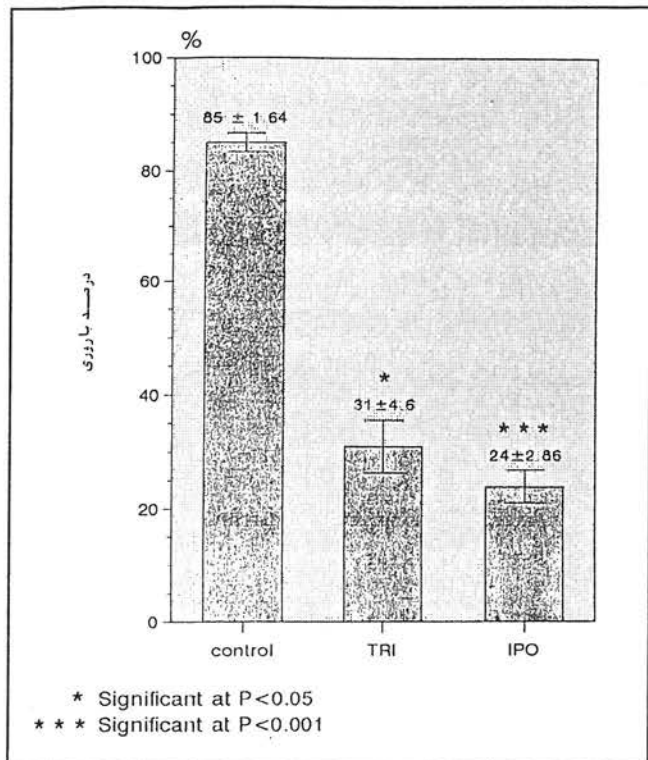
N.S= Non Significant
* Significant at P<0.05

نمودار ۳- اثر تری متوپریم (TRI) و ایزوپروپیل اکسی متیل پیریمیدین (IPO) بر تولید روزانه اسپرم در موش صحرائی نر

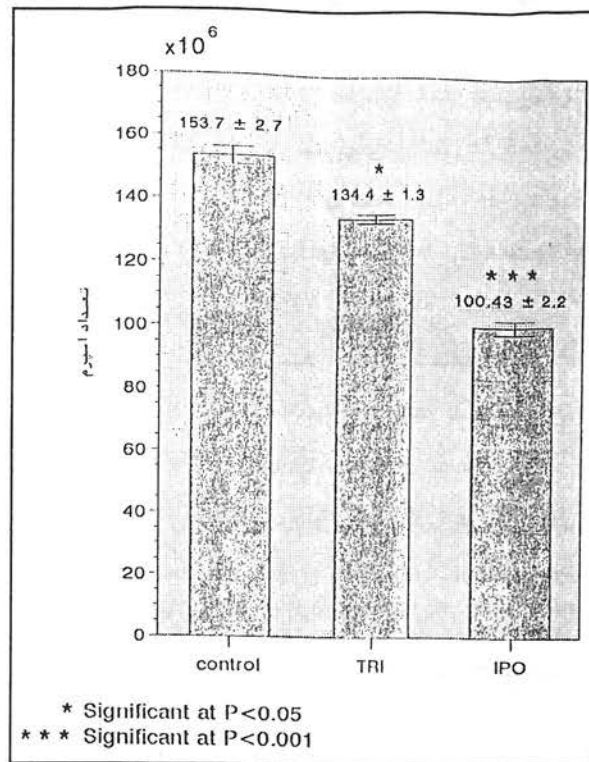


* Significant at P<0.05
*** Significant at P<0.001

نمودار ۴- اثر تری متوپریم (TRI) و ایزوپروپیل اکسی متیل پیریمیدین (IPO) بر تحرک اسپرمها در موش صحرائی نر



نمودار ۵- اثر تری متوپریم (TRI) و ایزوپروپیل اکسی متیل پیریمیدین (IPO) بر درصد باروری در موش صحرائی نر



نمودار ۴- اثر تری متوپریم (TRI) و ایزوپروپیل اکسی متیل پیریمیدین (IPO) بر میزان ذخیره اسپرم در موش صحرائی نر

موش صحرائی نر بوده و توانسته است بدون تغییر در غلظت تستوسترون سرم، باروری را به میزان ۲۴ درصد نسبت به گروه کنترل کاهش دهد. با توجه به اینکه اسپرمها بعد از تولید در بیضه‌ها، سریعاً توسط لوله‌های منی بر به اپیدیدیم منتقل شده و قابلیت‌های لازم از قبیل تحرک، قدرت باروری و تبدیل شدن به یک اسپرم بالغ را بدست می‌آورند بدین لحاظ کاهش قدرت تحرک اسپرمها توسط TRI و IPO و کاهش معنی‌دار درصد اسپرمهای زنده توسط IPO نتیجه تأثیر احتمالی این ترکیبات بر بافت اپیدیدیم می‌باشد. (۶)

بررسی نمودار مربوط به میزان تولید روزانه اسپرم توسط بیضه‌ها (DSP) نشان می‌دهد که IPO دارای اثرات انکارناپذیری بر فرآیند اسپرماتوزن می‌باشد، همچنین TRI و بخصوص IPO توانسته است میزان ذخیره اسپرم اپیدیدیم (ESR) را بطور معنی‌داری کاهش دهد لذا با توجه به اینکه طول مدت مصرف دارو ۶۰ روز و نیز طول چرخه اسپرماتوزنیک در موش صحرائی حدود ۴۸ روز می‌باشد بنظر می‌رسد که

اثر بر میزان باروری موشها

نتایج نشان می‌دهد که ایزوپروپیل اکسی و تری متوپریم در مقایسه با گروه کنترل به ترتیب میزان باروری را به ۳۱ و ۲۴ درصد تقلیل داده‌اند. (P<0.05 و P<0.001) نمودار شماره ۵.

اثر بر میزان تستوسترون سرم و PH مایع منی

با اندازه‌گیری تستوسترون سرم به روش RIA و بوسیله گاما کانتر و همچنین PH مایع منی بوسیله کاغذ PH متر هیچگونه تغییر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل مشاهده نگردید.

بحث

نتایج حاصل از آزمایشهای متعدد انجام شده در این مطالعه و مقایسه آن با گروه شاهد نشان می‌دهد که داروی سنتز شده (ایزوپروپیل اکسی متیل پیریمیدین) حتی در مقایسه با تری متوپریم دارای اثرات معنی‌داری بر عوامل باروری در

اختصاصی که توسط سلولهای سرتولی تولید می شود مربوط دانست.

بنابراین با تکیه بر اطلاعات بدست آمده می توان نتیجه گرفت که اثر مستقیم آنها بر سلولهای پوششی لوله های منی ساز و اپیدیدیم می باشد که اثر آنها همانند سایر داروهای ضد مالاریایی دی آمینوپیریمیدینها مربوط به مهار دی هیدروفولات ردوکتاز (DHFR) و در نتیجه کاهش در بیوسنتز نوکلئوتیدهای پورین، تیمیدیلات و مشتقات متیل می باشد که همانند اثر پیریمتامین تأثیری بر سنتز تستوسترون نداشته است. امید است با انجام تحقیقات بیشتر شاهد سنتز داروی پیشگیری از حاملگی در مردان و مشارکت عملی آنها در تنظیم خانواده باشیم.

REFERENCES

- 1) Anand R.J.K, Kanwar U, Sanyal SN.; Calcium channel antagonist, verapamil Modulates human spermatozoal functions; *Research in experimental medicine*; 194: 1994, 166-78
- 2) Celeb A. Varadaraj Chandrasheker, Bradley S. Hurst, Woo Kyoong Kim, and William D. Schlaf; The effects of chronic administration of pyrimethamine on spermatogenesis and fertility in male rats; *Journal of andrology*, 14(3): 1993, 147-9
- 3) F.C. W.U; Male contraception: current status and future prospects; *clinical endocrinology*, 29: 1988, 443-65
- 4) Fullerton D.S, Wilson and Gisvold's; *Textbook of organic medicinal and pharmaceutical chemistry*, 9th edition, J.B. lippincott company philadelphia 1991, 714-15;
- 5) James Cosention M. William y. chey Takinara hiroshi and cockett Abraham T.K.; *The effect of sulfasalazine on human male fertility potential and*

ترکیبات مورد استفاده به محض ورود به بدن توانسته اند خیلی سریع بر بافت بیضه اثر کرده و اسپرماتوزن را کاهش دهند و با توجه به اطلاعات قبلی بنظر می رسد که داروهای فوق تأثیر اصلی خود را در مراحل اولیه تا میانی اسپرماتوزن اعمال می کنند^(۲). از طرف دیگر عدم تغییر در میزان تستوسترون سرم در مطالعه حاضر، تأییدی بر نتایج حاصله از آزمایشات قبلی می باشد. و با توجه به مکانیسم تأثیر داروهای که از طریق مهار آنزیم DHFR می باشد، بنظر می رسد که اثرات آنها برگشت پذیر باشد.^(۵) ضمناً اثرات داروهای مورد مطالعه را تا حدی می توان به اثرات مستقیم آنها بر روی سلولهای سرتولی مربوط دانست زیرا بدون تغییر در غلظت هورمون تستوسترون توانسته اند عوامل مؤثر باروری را بطور معنی داری کاهش دهند^(۲) و چنین اثراتی را می توان به کاهش ترشح پروتئینهای

seminal prostaglandins; journal of urology: 1984, 682-686

6) James Cosention M. Pakyz RE. Fried J. Pyrimethamine: An approach to the development of a male contraceptive; *proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87:1990, 1431-5.

7) Tanami and Hirokazu.; *Effect of male oral contraceptive gossypol on testicular DNA polymerase in rat; Japanease journal of fertility and sterility*, 39(3): 1994, 283-91

8) Taylor George T., Griffin Michael G, and Bardgett Mark.; *Search for a male contraceptive: the effect of gossypol on sexual motivation and epididymal sperm; journal of medicine*, 22(1): 1991, 24-43

9) Oberlander G. Yeung C. H, and cooper T.G.; *Induction of reversible infertility in male rats by oral ornidazole and its effects on sperm motility and epididymal secretion; journal of reproduction and fertility*; 100: 1994, 551-59

**EVALUATION OF CONTRACEPTIVE EFFECTS OF TRIMETHOPRIM AND
2,4-DIAMINO-5(3,4-DICHLOROPHENYL)-6-ISOPROPYLOXYMETHYLPYRIMIDINE
IN MALE RATS**

*H.R. Sadeghipoor Roudsari, ph.D.**

ABSTRACT

With the problems resulting from the rapid trend of population growth, the development of procedures capable of decreasing the population growth rate, to inhibit and stagnate this condition is a necessity.

It is obvious that without the contribution and sense of responsibility of men, population control programs and family planning will be unsuccessful. In the present study, attempts have been made to evaluate a newly synthesized analogue of diamino pyrimidines compounds with the chemical name of 2,4-diamino-5(3,4-dichlorophenyl)-6-isopropoxyloxy methyl pyrimidine, (IPO) and trimethoprim (TRI) on male rats.

This study indicates that the compound without any toxic effects, important side effects or serum testosterone changes decreases the fertility of rats. Also IPO significantly decreases the sperm motility (SM), percent of viable sperm, daily sperm production (DEP) and epididymal sperm reserve (ESR) but TRI decreases the SM and ESR.

**Key Words: 1) Male contraceptive
3) Trimethoprim**

**2) Isopropoxyloxy methyl pyrimidine
4) Rat**

* Associate Professor of Tehran University of Medical Sciences and Health Services