

吡喹酮对日本血吸虫核酸合成的影响

肖树华 王翠英 焦佩英 (中国医学科学院寄生虫病研究所, 上海 200025)

俞月桂 (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

提要 日本血吸虫与吡喹酮 $0.1-10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 接触4—8 h后, $[^3\text{H}]$ 腺苷掺入各浓度组♂虫及 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 组♀虫RNA的量均明显减少,但掺入虫的DNA的量则无明显改变。血吸虫与上述药物浓度接触8—24 h后 $[^3\text{H}]$ 尿苷和 $[^3\text{H}]$ 胸苷分别掺入虫的RNA和DNA的量皆无明显变化。感染小鼠一次ig吡喹酮100及300 mg/kg后24及48 h,始见虫的RNA及蛋白质的含量明显减少。初步认为吡喹酮对血吸虫核酸合成的影响在其杀虫过程中可能不是一个重要环节。

关键词 日本血吸虫; 吡喹酮; 核苷; 掺入剂

日本血吸虫,特别是♀虫,每天产卵数百至数千个,需大量合成蛋白质,故虫的核酸代谢具有重要意义。组织化学观察的结果表明,日本血吸虫经吡喹酮作用后,其RNA受到一定的影响⁽¹⁾,故又用 ^3H 标记的几种核苷,观

1980年12月13日收稿 1981年3月21日修回
本项研究得到联合国开发计划署/世界银行/世界卫生组织热带病研究培训特别规划的支持

察吡喹酮对虫的核酸合成及含量等的影响。

方 法

一、药物 吡喹酮由中国医学科学院寄生虫病研究所化学合成研究室供给。在体外试验中, 药物先用 PEG 400 溶解, 再按所需浓度用生理盐水稀释, 然后再加至培养液中, 容量为 5 μ l/ml 培养液。在体内试验中, 则将药物配制成 0.1—0.3% 的 PEG 溶液 ig。 [3 H] 尿苷 (21.8 Ci/mmol), [3 H] 胸苷 (25 Ci/mmol) 和 [3 H] 腺苷 (25 Ci/mmol) 由中国科学院上海原子核研究所供给。

二、体外培养试验 自感染 1500—2000 条血吸虫尾蚴达 5—6 周的家兔体内取虫, 按常规⁽²⁾进行体外培养, 每一卡氏瓶盛装牛血清-台氏液 (1:5) 4 ml 培养合抱虫 20—30 对。培养的血吸虫先在 37 $^{\circ}$ C 恒温箱中保温 30 min, 然后加入不同浓度的吡喹酮, 随即加入 [3 H] 核苷, 放射浓度为 2 μ Ci/ml, 并在上述恒温箱内培养 2—24 h。试验终止时, 迅速将培养液吸去, 用冰冷的生理盐水将虫体洗涤 3 次, 然后置于冰冷的重蒸馏水内磨研成匀浆, 并按改进的方法⁽³⁾提取和测定虫的 RNA 及 DNA, 同时用 YSJ-78 型液体闪烁计数器 (中国科学院上海原子核研究所制造) 测定 RNA 及 DNA 中的 3 H 含量 (以每条虫的 cpm 表示)。另取虫的匀浆, 按 Lowry 氏法⁽⁴⁾测定虫的蛋白质含量。

三、体内试验 小鼠接种血吸虫尾蚴 100—120 条, 并于感染后 30—35 d 1 次 ig 不同剂量的吡喹酮。受治鼠于给药后 4—48 h 剖杀取虫, 或直接测定其 RNA、DNA 与蛋白质的含量; 或用含 [3 H] 腺苷的培养液培养 2 h 后, 按上述方法测定虫的 RNA 和 DNA 的 3 H 含量。

结 果

一、体外试验

1. 合抱血吸虫

1) RNA、DNA 及蛋白质的含量 (表 1) 合抱的 σ 、 δ 虫与吡喹酮接触 2—4 h 后, 除个别组 (10 μ g/ml 2 h) 的 DNA 含量明显减少外, 其余各组的 RNA、DNA 和蛋白质的含量均与各相应对照组的相仿。

2) [3 H] 核苷掺入 RNA 和 DNA 的量 (表 2) 吡喹酮对 [3 H] 胸苷掺入合抱虫 DNA 的量无明显影响; [3 H] 尿苷掺入虫 RNA 的量为 39 \pm 16—82 \pm 47 cpm/每对虫。吡喹酮的浓度为 0.5, 1 及 10 μ g/ml 时, 可明显减少腺苷掺入合抱虫 RNA 的量, 但掺入合抱虫 DNA 的量则与对照的相仿。

2. σ 、 δ 虫

1) RNA、DNA 及蛋白质的含量 (表 3) 两性血吸虫与吡喹酮 0.1—10 μ g/ml 接触 4—24 h 后, 其 RNA、DNA 和蛋白质的含量与对照组的差别不显著。

表 1. RNA, DNA and protein contents of schistosomes (μ g/pair) exposed for 2-4 h to praziquantel *in vitro*. $\bar{x} \pm$ SD. (N)

Praziquantel (μ g/ml)	2 h			4 h		
	RNA	DNA	Protein	RNA	DNA	Protein
0	7.2 \pm 0.6 (6)	2.4 \pm 0.3 (6)	169 \pm 33 (6)	8.8 \pm 1.2 (8)	2.8 \pm 0.7 (8)	177 \pm 8 (5)
0.005	7.6 \pm 0.7 (6)	2.2 \pm 0.2 (6)	222 \pm 33 (6)	8.6 \pm 0.9 (7)	2.2 \pm 0.1 (7)	148 \pm 11 (5)
0.05	6.6 \pm 0.6 (6)	2.3 \pm 0.2 (6)	182 \pm 31 (6)	7.8 \pm 1.5 (7)	2.4 \pm 0.4 (7)	150 \pm 13 (4)
0.5	7.0 \pm 0.6 (6)	2.3 \pm 0.2 (6)	199 \pm 19 (6)	8.3 \pm 1.1 (5)	2.3 \pm 0.1 (5)	149 \pm 34 (3)
1	7.0 \pm 0.4 (6)	2.1 \pm 0.4 (6)	203 \pm 19 (6)	7.8 \pm 1.4 (7)	2.8 \pm 0.8 (7)	146 \pm 20 (5)
10	6.8 \pm 0.8 (6)	1.8 \pm 0.3 (6)	198 \pm 28 (6)	7.9 \pm 1.5 (7)	2.0 \pm 0.4 (6)	139 \pm 33 (5)

表 2. Incorporation of [³H]adenosine, [³H]uridine and [³H]thymidine into RNA and DNA of schistosomes (cpm/pair) exposed for 2-4 h to praziquantel *in vitro*. $\bar{x} \pm SD$. (N)

Praziquantel ($\mu\text{g/ml}$)	2 h		4 h	
	Incorporation of [³ H]adenosine into RNA	Incorporation of [³ H]adenosine into DNA	Incorporation of [³ H]uridine into RNA	Incorporation of [³ H]thymidine into DNA
0	217 \pm 94 (5)	74 \pm 55 (6)	82 \pm 47 (3)	17 \pm 9 (5)
0.005	157 \pm 30 (6)	53 \pm 34 (6)	48 \pm 26 (3)	19 \pm 9 (4)
0.05	146 \pm 59 (6)	58 \pm 25 (6)	82 \pm 83 (3)	21 \pm 13 (4)
0.5	69 \pm 23 (6)*	34 \pm 11 (6)	43 \pm 19 (2)	25 \pm 4 (3)
1	71 \pm 17 (6)*	35 \pm 5 (6)	43 \pm 19 (3)	16 \pm 16 (4)
10	58 \pm 24 (6)*	24 \pm 8 (6)	39 \pm 16 (3)	18 \pm 9 (4)

* $P < 0.05$

表 3. RNA, DNA and protein contents of schistosomes ($\mu\text{g/worm}$) exposed for 4-24 h to praziquantel *in vitro*. $\bar{x} \pm SD$. (N)

Praziquantel ($\mu\text{g/ml}$)	Sex of worm	4 h			8 h			24 h		
		RNA	DNA	Protein	RNA	DNA	Protein	RNA	DNA	Protein
0	♂	4.2 \pm	1.6 \pm	70 \pm	3.1 \pm	1.6 \pm	88 \pm	3.4 \pm	0.7 \pm	71 \pm
		0.6 (4)	0.3 (4)	17 (4)	1.0 (15)	1.1 (13)	15 (16)	1.1 (10)	0.2 (6)	20 (6)
	♀	5.6 \pm	2.4 \pm	76 \pm	4.9 \pm	1.9 \pm	90 \pm	4.7 \pm	1.6 \pm	73 \pm
		0.7 (4)	0.3 (4)	7 (3)	0.6 (14)	1.3 (14)	19 (15)	1.4 (10)	0.7 (6)	22 (6)
0.1	♂	4.0 \pm	1.5 \pm	75 \pm	3.3 \pm	1.3 \pm	84 \pm	2.8 \pm	0.9 \pm	76 \pm
		0.3 (3)	0.5 (3)	12 (3)	0.4 (10)	1.1 (9)	10 (9)	0.9 (8)	0.2 (6)	24 (6)
	♀	5.2 \pm	2.5 \pm	87 \pm	4.5 \pm	1.6 \pm	91 \pm	4.7 \pm	1.2 \pm	78 \pm
		0.1 (2)	0.2 (2)	28 (2)	0.7 (10)	1.1 (9)	21 (9)	1.6 (8)	0.5 (6)	23 (6)
1	♂	4.3 \pm	1.4 \pm	63 \pm	3.3 \pm	1.3 \pm	91 \pm	2.6 \pm	0.6 \pm	66 \pm
		0.8 (3)	0.4 (3)	17 (3)	0.4 (14)	0.9 (12)	15 $\frac{1}{2}$ (14)	0.7 (12)	0.2 (8)	14 (8)
	♀	5.6 \pm	1.8 \pm	75 \pm	4.6 \pm	1.4 \pm	92 \pm	4.1 \pm	1.1 \pm	79 \pm
		0.3 (3)	0.4 (3)	25 (3)	0.6 (14)	0.9 (12)	25 (13)	0.6 (12)	0.4 (8)	19 (8)
10	♂	3.9 \pm	1.3 \pm	75 \pm	3.3 \pm	1.0 \pm	80 \pm	2.2 \pm	0.5 \pm	64 \pm
		0.4 (4)	0.1 (4)	10 (4)	0.6 (13)	0.8 (13)	22 (15)	0.6 (12)	0.2 (8)	18 (8)
	♀	5.5 \pm	1.8 \pm	65 \pm	5.0 \pm	1.5 \pm	97 \pm	4.1 \pm	0.9 \pm	73 \pm
		0.4 (4)	0.4 (4)	4 (4)	0.7 (14)	1.1 (14)	18 (16)	0.8 (11)	0.2 (8)	22 (8)

2) [³H]核苷掺入 RNA 和 DNA 的量(表 4) [³H]腺苷掺入♀、♂虫 RNA 的量较[³H]尿苷掺入的为多, 但[³H]腺苷和[³H]胸苷掺入两性血吸虫 DNA 的量则甚少。血吸虫与 0.1-10 $\mu\text{g/ml}$ 的吡喹酮接触 4 h 后, [³H]腺

苷掺入♂虫 RNA 的量较对照组的明显减少 ($P < 0.05$), 但掺入♀虫 RNA 的量则无明显改变。虫与药物接触 8 h 后的结果与上述相仿, 但[³H]腺苷掺入 10 $\mu\text{g/ml}$ 组♀虫 RNA 的量亦明显减少。吡喹酮对[³H]腺苷掺入两性血

表 4. Incorporation of [³H]adenosine, [³H]uridine and [³H]thymidine into RNA and DNA of schistosomes (cpm/worm) exposed for 4-24 h to praziquantel *in vitro*. $\bar{x} \pm SD$. (N)

Praziquantel ($\mu\text{g/ml}$)	Sex of worm	4 h		8 h		24 h			
		Incorporation of [³ H]adenosine into RNA	Incorporation of [³ H]adenosine into DNA	Incorporation of [³ H]uridine into RNA	Incorporation of [³ H]thymidine into DNA	Incorporation of [³ H]uridine into RNA	Incorporation of [³ H]thymidine into DNA		
0	♂	146 ± 16 (4)	14.3 ± 5.1 (4)	161 ± 55 (8)	15.7 ± 2.5 (7)	44 ± 21 (4)	11.0 ± 6.4 (3)	41 ± 31 (5)	6.4 ± 1.5 (3)
	♀	231 ± 70 (4)	15.2 ± 3.6 (4)	239 ± 108 (8)	11.6 ± 4.8 (8)	30 ± 13 (3)	6.2 ± 2.8 (3)	27 ± 17 (5)	10.7 ± 10.5 (3)
0.1	♂	94 ± 26 (3)	*15.6 ± 5.2 (3)	77 ± 35 (6)	*13.7 ± 4.3 (6)	27 ± 5 (2)	6.0 ± 6.3 (2)	21 ± 17 (4)	7.1 ± 2.8 (3)
	♀	285 ± 108 (2)	20.2 ± 1.9 (2)	193 ± 31 (6)	14.6 ± 5.9 (6)	41 ± 26 (2)	12.5 ± 1.9 (2)	50 ± 33 (4)	9.5 ± 2.3 (3)
1	♂	57 ± 14 (3)	*15.2 ± 4.8 (3)	35 ± 16 (6)	*14.0 ± 3.4 (6)	23 ± 9 (4)	5.9 ± 2.9 (4)	15 ± 5 (6)	4.4 ± 1.1 (4)
	♀	236 ± 30 (3)	11.8 ± 5.8 (3)	155 ± 49 (6)	11.6 ± 3.4 (6)	34 ± 13 (4)	10.1 ± 5.5 (4)	32 ± 20 (6)	7.2 ± 3.5 (4)
10	♂	51 ± 9 (4)	*11.8 ± 2.0 (4)	42 ± 20 (7)	*12.4 ± 6.6 (7)	17 ± 2 (3)	7.1 ± 2.2 (4)	16 ± 9 (6)	7.0 ± 4.6 (4)
	♀	199 ± 49 (4)	14.8 ± 6.0 (4)	113 ± 33 (8)	*14.4 ± 7.5 (8)	15 ± 8 (2)	11.1 ± 6.3 (4)	33 ± 27 (5)	9.0 ± 3.2 (4)

* P < 0.005

表 5. RNA, DNA and protein contents of schistosomes ($\mu\text{g/worm}$), harboring in mice 0-48 h after an intragastric dosage of praziquantel. $\bar{x} \pm SD$. (N)

Time of medication (h)	Sex of worm	Praziquantel 100 mg/kg			Praziquantel 300 mg/kg		
		RNA	DNA	Protein	RNA	DNA	Protein
0	♂	3.1 ± 0.8 (12)	0.8 ± 0.3 (12)	87 ± 19 (12)	3.1 ± 0.8 (12)	0.8 ± 0.3 (12)	87 ± 19 (12)
	♀	5.0 ± 0.9 (12)	1.3 ± 0.2 (12)	82 ± 17 (12)	5.0 ± 0.9 (12)	1.3 ± 0.2 (12)	82 ± 17 (12)
4	♂	3.5 ± 0.2 (4)	0.8 ± 0.1 (4)	75 ± 12 (4)	3.1 ± 0.3 (4)	0.7 ± 0.2 (4)	70 ± 9 (4)
	♀	4.9 ± 1.1 (4)	1.2 ± 0.3 (4)	83 ± 9 (4)	5.5 ± 0.7 (4)	1.0 ± 0.2 (4)	73 ± 7 (4)
8	♂	3.3 ± 0.3 (4)	0.8 ± 0.2 (4)	65 ± 10 (4)	3.6 ± 0.3 (5)	0.7 ± 0.1 (5)	68 ± 15 (5)
	♀	5.8 ± 0.6 (4)	1.5 ± 0.4 (4)	77 ± 6 (4)	6.1 ± 0.4 (5)	1.3 ± 0.4 (5)	77 ± 3 (5)
24	♂	1.8 ± 0.4 (5)	*0.8 ± 0.2 (5)	67 ± 24 (5)	1.7 ± 0.4 (7)	*0.6 ± 0.3 (7)	60 ± 10 (7)
	♀	3.5 ± 0.3 (5)	*1.3 ± 0.2 (5)	60 ± 10 (5)	3.7 ± 0.5 (6)	*1.0 ± 0.3 (6)	62 ± 12 (6)
48	♂	1.8 ± 0.4 (5)	*0.9 ± 0.4 (5)	60 ± 8 (5)	1.7 ± 0.6 (6)	*0.8 ± 0.4 (5)	50 ± 7 (5)
	♀	3.3 ± 0.6 (5)	*1.3 ± 0.2 (5)	65 ± 21 (5)	3.2 ± 0.3 (5)	*1.0 ± 0.1 (5)	51 ± 11 (5)

* P < 0.05

吸虫 DNA 的量均无明显影响。

以 $[^3\text{H}]$ 尿苷和 $[^3\text{H}]$ 胸苷为基质时,吡喹酮对前者掺入虫的 RNA 和后者掺入虫的 DNA 的量无明显影响

二、体内试验

1. 感染小鼠 ig 吡喹酮后其体内血吸虫的 RNA、DNA 及蛋白质含量的变化(表 5) 感染血吸虫病的小鼠 1 次 ig 吡喹酮 100 及 300 mg/kg 后 1-2 d, 其体内♀、♂虫的 RNA 含量与对照组相比明显减少($P < 0.05$), 而且在相应时间内两性血吸虫的蛋白质含量, 除个别组外, 亦均显著减少。在上述时间内, 两性血吸虫的 DNA 含量与对照组相仿。

2. 感染小鼠 ig 吡喹酮后自其肝内取虫作体外培养时吡喹酮对 $[^3\text{H}]$ 腺苷掺入虫体核酸的影响(表 6) 自 1 次 ig 吡喹酮 100 和 300 mg/kg 后 4 h 的感染鼠体内取虫作体外培养 2 h 后, $[^3\text{H}]$ 腺苷掺入♂虫 RNA 的量为 $55 \pm 25 - 63 \pm 30$ cpm/每条虫, 而掺入♀虫 RNA 的量则与对照组的相似。若小鼠于给药后 24 h 剖取虫作体外培养, 则 $[^3\text{H}]$ 腺苷掺入两性血吸虫 RNA 的量均与对照组相似。在上述时间内, $[^3\text{H}]$ 腺苷掺入两性血吸虫 DNA 的量与对照组

表 6. Incorporation of $[^3\text{H}]$ adenosine into RNA and DNA of schistosomes (cpm/worm), previously harbored in mice 4-24 h after an intragastric dosage of praziquantel, in drug-free medium for 0-2 h. $\bar{x} \pm \text{SD}$. (N)

Dosage (mg/kg)	Time of medication (h)	Sex of worm	Incorporation of $[^3\text{H}]$ adenosine into	
			RNA	DNA
0		♂	72 ± 40 (8)	45 ± 16 (6)
		♀	111 ± 70 (8)	33 ± 10 (8)
100	4	♂	63 ± 30 (7)	42 ± 31 (7)
		♀	112 ± 40 (7)	50 ± 34 (7)
	24	♂	114 ± 77 (9)	43 ± 39 (9)
		♀	160 ± 114 (9)	40 ± 31 (9)
300	4	♂	55 ± 25 (8)	30 ± 18 (8)
		♀	94 ± 34 (8)	30 ± 17 (8)
	24	♂	77 ± 43 (10)	31 ± 23 (9)
		♀	111 ± 89 (9)	31 ± 14 (9)

的相近。

讨 论

羟蒽酮 (hycanthone) 具有抑制曼氏血吸虫核酸合成的作用, 但是由于对羟蒽酮具有抗药性的曼氏血吸虫的核酸合成亦同样受到抑制, 故认为这一作用不是羟蒽酮的主要杀虫作用⁽⁶⁾。

吡喹酮试验的结果表明, 体外培养的血吸虫经药物作用后, $[^3\text{H}]$ 尿苷和 $[^3\text{H}]$ 胸苷分别掺入虫的 RNA 及 DNA 的量无明显影响, 而 $[^3\text{H}]$ 腺苷掺入♂虫和高浓度药物组♀虫 RNA 的量则明显受抑制, 但未见虫的 RNA 和蛋白质含量有明显减少。这说明, 在体外培养条件下, 吡喹酮抑制 $[^3\text{H}]$ 腺苷掺入血吸虫 RNA, 尚不足以影响虫的 RNA 及蛋白质含量。

在体内试验中, 则与上述的情况相反, 病鼠 1 次 ig 吡喹酮后 1-2 d, 其体内两性血吸虫的 RNA 及蛋白质的含量均明显减少。这可能是在体内, 血吸虫除受原药作用外, 尚可能受其代谢物的影响, 虽未明显抑制 $[^3\text{H}]$ 腺苷掺入虫的 RNA, 但虫的核酸合成的其它环节可能受到干扰。鉴于体内或体外的血吸虫经吡喹

酮作用短时间后, 其糖原含量, 葡萄糖摄入量以及糖原的合成均明显减少和受抑制⁽⁶⁾, 而其RNA和蛋白质含量的减少则在小鼠服药后24 h始明显。因此, 吡喹酮对血吸虫核酸合成的影响, 在其杀虫作用过程中可能不是一个重要环节。

参 考 文 献

- 1 杨元清、杨惠中、肖树华、邵葆若、汤雪明、朱建国、张蕙心. 中国医学科学院学报 1979年9月;

1(1):7

- 2 肖树华、邵葆若、徐月琴、潘秋如. 药理学报 1980年2月; 15(2):105
- 3 沈美玲、陈瑞婷、胥彬. 生物化学与生物物理学报 1982年9月; 2(3):218
- 4 Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. *J Biol Chem* 1951 Nov; 193(1):265
- 5 Neame KD, Homewood CA, Marshall I, Jewsbury JM. *Ann Trop Med Parasitol* 1978 Dec; 72(6):587
- 6 肖树华、王翠英、焦佩英、俞月桂、袁幸菊. 中国药理学报 1981年9月; 2(3):204

Acta Pharmacologica Sinica 1981 Dec; 2(4):275—280

EFFECT OF PRAZIQUANTEL ON NUCLEIC ACID SYNTHESIS IN *SCHISTOSOMA JAPONICUM*

XIAO Shu-hua, WANG Cui-ying, JIAO Pei-ying

(Institute of Parasitic Diseases, Chinese Academy of Medical Sciences, Shanghai 200025)

YU Yue-gui (Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031)

ABSTRACT Nucleic acid synthesis was measured by the incorporation of [³H]adenosine, [³H]uridine or [³H]thymidine into nucleic acid of *Schistosoma japonicum*. When bisexual worms were incubated for 4—8 h at 37°C in culture medium containing [³H]adenosine and praziquantel(0.1—10 µg/ml), the incorporation of [³H]adenosine into RNA of the male worms and female worms (10 µg/ml) decreased markedly. No effect of the drug on the incorporation of [³H]adenosine into DNA was observed. After the worms had been exposed to praziquantel 0.1—10 µg/ml, the incorporation of [³H]uridine or [³H]thymidine into RNA or DNA of the schistosomes was not affected, nor were the levels of RNA, DNA and protein of the worms.

Both RNA and protein levels of the worms decreased apparently 1—2 d after praziquantel 100—300 mg/kg were ig to the infected mice. However, when bisexual worms perfused out from the infected mice 4—24 h after praziquantel 100—300 mg/kg were maintained *in vitro*, no effect of the drug on the incorporation of [³H]adenosine into RNA and DNA was detected. It is suggested that the effect of praziquantel on nucleic acid synthesis plays no important role in its schistosomicidal action.

KEY WORDS *Schistosoma japonicum*; praziquantel; nucleoside; incorporation of ³H

This investigation received support from the UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases.