

# 青蒿素及其衍生物对体外培养恶性疟原虫的作用

管惟滨 黄文锦 周元昌 龚建章 (第二军医大学, 上海 201903)

**摘要** 用体外培养的恶性疟原虫 FCC-1/HN 株测试青蒿素、蒿甲醚及青蒿酯钠的抗疟效应。原虫培养用 Trager-Jensen 法, 药效测定用微量法, 观察 48 h 后结果, 测得上述 3 个化合物的半数原虫抑制浓度分别为 1.99, 2.19 及 0.14 ng/ml, 同时氯喹对照为 2.24 ng/ml, 可见以青蒿酯钠效果最好, 其氯喹当量为 16, 其药效为青蒿素的 14.3 倍。青蒿素及蒿甲醚的抗疟效果与氯喹相近。

**关键词** 青蒿素; 蒿甲醚; 青蒿酯钠; 体外培养恶性疟原虫

青蒿素治疟效速, 能杀抗氯喹的恶性疟原虫, 但在水中溶解度小, 临床复燃率高<sup>(1)</sup>。因此

近年来有不少合成青蒿素衍生物的报告<sup>(2-5)</sup>。顾浩明等<sup>(6)</sup>用伯氏鼠疟原虫(*Plasmodium berghei*)在体内测试 25 种青蒿素衍生物的抗疟作用, 发现 SM 224 等 8 种衍生物的抗疟作用比青蒿素高。目前尚未见青蒿素类化合物在体外测试抗疟药效的报告。我们采用了本室建立的测效方法<sup>(7)</sup>比较了青蒿素、蒿甲醚及青蒿酯钠对恶性疟原虫的药效。

## 材料与方法

**药物配制** 青蒿素及蒿甲醚由中国科学院药物研究所提供与配制, 先分别将其溶于 1ml 的 ETOH, 再以 5% 葡萄糖生理盐水稀释到 100 ml 经 15 Lb 20 min 高压消毒后用薄层层析与标准品对照检查, 证明含量不变, 无分解现象。青蒿酯钠由广西壮族自治区桂林制药厂供给, 用 5% 葡萄糖生理盐水配成水溶液使用。配制后将药液放 4 ℃ 冰箱短期保存, 用前检查未发现结晶析出。对照药用磷酸氯喹, 系上海第十制药厂出品(批号 770611), 用药量按基质计算。

**药效测定** 用恶性疟原虫 FCC-1/HN 株(系 1977 年采自海南岛一患者的血液), 原虫对氯喹敏感, 培养方法仿文献<sup>(8)</sup>, 但用兔血清代人血清<sup>(9)</sup>。用 RPMI 1640 作培养液, 40 孔塑料测定板(孔内径 6.7 mm, 孔深 10 mm), 每孔内含 2.5%(v/v) 的 RBC(原虫感染率约 1%) 的培养液 180 μl 及含不同浓度药物的葡萄糖生理盐水 20 μl, 另设空白对照。将测定板放入蜡烛缸内, 点燃蜡烛, 加盖密闭, 待蜡烛自灭后移入 36.5–37°C 培养 48 h。然后采样涂片, 吉氏染色, 检查疟原虫的感染率。用 Finney's 法计算其半数有效量( $ED_{50}$ )及 90% 有效量( $ED_{90}$ )。

## 结 果

共测试 3 种药。每虫除设对照组外, 给药组分设 5–10 组, 并使最大剂量组的药效近 100%, 最小剂量组药效近 0%。培养 48 h 未换液对照组原虫发育良好, 一般均能增殖 3 倍以上<sup>(7)</sup>。每组设 3 孔, 实验结果计算其平均数, 并以氯喹为对照药, 算出其相应的氯喹当量, 结果见表 1。由表 1 数据算出的回归方程式,  $ED_{50}$  及  $ED_{90}$  值列于表 2。由表 1 表 2 可见 3 种青蒿素类化合物均有抗疟效果, 其中以青蒿酯钠效果最好, 其  $ED_{50}$  仅 0.14 ng/ml 为氯喹的  $ED_{50}$ (2.24 ng/ml) 的 1/16。青蒿素及蒿甲

Table 1. Antimalarial action *in vitro* of artemisinine derivatives against *Plasmodium falciparum*

Concentrations of compounds (ng/ml)	% Reduction in density of par- asitemia at 48 h of culturing			
	artemi- sinine	arteme- ther	sodium artesu- nate	chloro- quine
100				100
50			100	99.77
25			99.10	98.65
12.5			96.85	94.59
6.25	99.55	98.97	97.52	77.93
3.13	74.40	65.75	95.05	60.59
1.56	14.04	34.59	90.54	40.77
0.781	14.73	0	81.76	17.34
0.391	5.82	0	80.41	6.08
0.195			51.58	
0.0977			36.71	

Table 2.  $ED_{50}$  and  $ED_{90}$  values (ng/ml) and chloroquine equivalent(Chl. Eq.) of artemisinine derivatives *in vitro* against *Plasmodium falciparum*

Com- pounds	$Y = bX + a$	$ED_{50}$	$ED_{90}$	Chl. Eq. $ED_{50}$	Chl. Eq. $ED_{90}$
Chloro- quine	$2.33X + 4.18$	2.24	7.95	—	—
Artemi- sinine	$3.59X + 3.93$	1.99	4.52	1.13	1.76
Arteme- ther	$4.68X + 3.40$	2.19	4.12	1.02	1.93
Sodium artesu- nate	$1.38X + 6.18$	0.14	1.18	16.12	6.75

醚的  $ED_{50}$  分别为 1.99 及 2.19 ng/ml(其氯喹当量为 1.13 及 1.02), 与氯喹效果相近。

## 讨 论

本文用体外培养的方法, 直接观察测试青蒿素及其衍生物对恶性疟原虫的药效。实验表明青蒿酯钠抗疟效果最好, 水中溶解度大, 毒性比较小(小白鼠 ig 急性毒性  $LD_{50}$  为 1003 mg/kg)。临床治疗 186 例疟疾患者 im 100 mg, qd × 3 d, 48 h 后原虫全部转阴。青蒿酯钠的作用快速, 是一个对凶险性疟疾较好的抢救药。

蒿甲醚对鼠疟(*Plasmodium berghei*)抗氯喹株及正常株的疗效均比青蒿素高6倍<sup>(10,11)</sup>。云南临床验证证明蒿甲醚治疗恶性疟的治疗率明显高于青蒿素。我们观察蒿甲醚及青蒿素在体外培养中对红内期恶性疟原虫均有很强的杀灭作用,其药效相仿,且与氯喹的相近,这与临床及动物实验结果不一致,是否由于蒿甲醚在油内溶解度较大,体内吸收较好,有待研究。

**致谢** 得到上海药物研究所曾衍森同志及桂林制药厂刘旭同志的大力支持。参加者还有上海药物研究所束汉麟、张明及本校李锦明等同志。

### 参 考 文 献

- 1 Qinghaosu Antimalaria Coordinating Research Group. *Chin Med J* 1979 Dec; 92(12): 811
- 2 李英、虞佩琳、陈一心、李良泉、盖元珠、王

德生、郑亚平. 科学通报 1979年7月30日, 24(14):667

- 3 虞佩琳、陈一心、李英、嵇汝运. 药学通报 1980年8月; 15(8):380
- 4 李英、虞佩琳、陈一心、嵇汝运. 同上 1980年12月; 15(12):566
- 5 刘旭. 同上 1980年4月; 15(4):183
- 6 顾浩明、吕宝芬、瞿志祥. 中国药理学报 1980年9月; 1(1):48
- 7 管惟滨、黄文锦、周元昌、龚建章. 药学学报 1982年2月; 17(2):139
- 8 Trager W, Jensen JB. *Science* 1976 Aug 20; 193:673
- 9 管惟滨、黄文锦、周元昌. 中华医学杂志 1980年10月; 60(10):625
- 10 顾浩明、刘明章、吕宝芬、许建一、陈丽娟、王美英、孙伟康、胥彬、嵇汝运. 中国药理学报 1981年6月; 2(2):138
- 11 杨启超、甘俊、李培寿、张爱凡、韦政清、石维志、李风文、胡美云、杨玉英、刘忠敏、范剑虹、孙振荣. 广西医学 1981年6月; 3(15):13

*Acta Pharmacologica Sinica* 1982 Jun; 3(2): 139—141

## EFFECT IN VITRO OF ARTEMISININE AND ITS DERIVATIVES ON *PLASMODIUM FALCIPARUM*

GUAN Wei-bin, HUANG Wen-jin, ZHOU Yuan-chang, GONG Jian-zhang  
(Second Military Medical College, Shanghai 201903)

**ABSTRACT** This paper reports the *in vitro* evaluation of antimalarial efficacy of artemisinine (qinghaosu) and its derivatives—artemether (methyl-dihydroartemisinine) and sodium artesunate (sodium dihydroartemisinine hemisuccinate; 804-Na) against *Plasmodium falciparum*. These drugs were tested for their activities with microtechnique against FCC-1/HN strain of the parasite, which was isolated from a malarial patient in Hainan Island in 1977 and cultured by Trager and Jensen's candle jar method. Artemisinine, artemether and sodium artesunate at concentra-

tions as low as 1.99, 2.19 and 0.14 ng/ml, inhibited the growth of half of the parasitemia ( $ED_{50}$ ) at the end of 48 h after culturing.  $ED_{50}$  of chloroquine used as a reference drug was 2.24 ng/ml. Among the compounds tested sodium artesunate was the most effective one and its chloroquine equivalent was 16.1. The therapeutic effects of artemisinine and artemether were similar to that of chloroquine.

**KEY WORDS** artemisinine; artemether; artesunate; *Plasmodium falciparum* cultured *in vitro*