

硝喹对食蟹猴疟原虫组织期的作用

胡友梅、 王兴相、 邓宝忠、 刘富安、 朱青平、 况明书

(第三军医大学, 重庆 630038)

提要 恒河猴 iv 或 ip 接种食蟹猴疟(柬埔寨株)孢子, 于 d 4 起 ig 硝喹醋酸盐(NQ) 2 mg/kg/d × 8 d, d 7 及 d 9 作肝活检. 组织期裂殖体数明显少于对照组, 且体积小, 着色浅, 有些核呈团块状. 另组猴待原虫血症出现后, ig 复方 NQ 5 mg/kg/d × 5 或 8 d. 少数猴在 1.5~2 个月血中原虫再现. 结果提示硝喹可能通过抑制核分裂而影响组织期裂殖体的发育.

关键词 抗疟药; 硝喹; 氯苯胍; 食蟹猴疟原虫; 组织期裂殖体

硝喹(nitroquine, CI_{679} , 简称 NQ)醋酸盐是一种新抗疟药, 实验和临床研究均证明它能有效地防治疟疾, 特别对鸡疟, 猴疟, 人间日疟和恶性疟在蚊体内孢子增殖期的发育有明显抑制作用⁽¹⁻⁴⁾, 并能抑制鸡脑中的鸡疟组织期裂殖体. NQ 对食蟹猴疟未见根治作用⁽⁵⁾. 本实验主要通过观察 NQ 对猴疟原虫组织期裂殖体的形态和原虫血症的影响. 研究 NQ 对食蟹猴疟原虫组织期的作用.

材料与方 法

动物感染 恒河猴体重 $3.0 \pm SD 1.3$ kg, ♀♂不拘, 实验前均经厚血膜镜检证实无自然感染。

食蟹猴疟原虫子孢子制备: 用食蟹猴疟原虫(柬埔寨株⁽⁶⁾)——大劣按蚊(*Anopheles dirus*)系统进行培育。将感染血液 iv 至健康恒河猴, 待原虫血症出现后, 让饥饿的大劣按蚊吸血, 然后在恒温室($26 \pm 1^\circ\text{C}$)内饲养 12 d, 将腺感染率达 80% 以上的蚊冷冻麻醉, 取头和胸部研磨, 离心(500 rpm), 将含子孢子的上清液 iv 或 ip 健康猴。NQ 由上海医药工业研究院合成, 氨苯砒(DDS)为上海第二制药厂生产, 两者于临用时以吐温 80 配成乳剂。磷酸氯喹为上海第十四制药厂生产, 用蒸馏水配成溶液备用。

实验治疗 接种子孢子(接种当天为 d 0)的恒河猴 8 只, 4 只不给 NQ, 4 只从 d 4 起(原虫发育至一定大小, 便于镜检)ig NQ 2 mg/kg/d × 8。8 只猴在 d 7 及 d 9 经 iv 戊巴比妥钠麻醉, 沿上腹中线切一约 3 cm 小口, 取两小块肝边缘组织, 分别用福尔马林及卡洛氏液固定。石蜡包埋。连续切片, 厚度为 5 μm, HE 和吉氏染色。光镜下观察原虫形态, 并用坐标纸测量切片面积, 乘以连续切片累计厚度, 以计算单位体积肝组织中原虫密度。不灌药猴每日查血直至原虫血症出现。灌药猴于灌药完毕起每周查血两次, 持续半年, 观察原虫血症出现情况。另 21 只猴分别接种 28~650 万子孢子, 待出现原虫血症后分成 3 组。两组 ig 复方 NQ(NQ 与 DDS 等量配伍)5 mg/kg/d, 其中一组(6 猴)连服 5 d, 另一组(7 猴)连服 8 d。第三组(8 猴)ig 磷酸氯喹 20 mg(基质)/kg/d × 3 d。于服药后每 d 查血。直至原虫消失。此后每周查血 1 次, 持续半年, 观察原虫再现情况。

结 果

NQ 对食蟹猴疟原虫组织期的形态影响

4 只未给药猴中的 3 只在接种原虫后 d 7 及

d 9 的肝组织连续切片中都较易找到原虫, 裂殖体平均密度为 5 ± 7 个/ mm^3 (表 1), 但 d 9 所见的原虫明显较 d 7 者大。以 #41 猴为例, d 7 的肝活检中查见 6 个完整的裂殖体, 厚度平均为 41.7 ± 13.3 μm, 而 d 9 所见原虫, 经测量 7 个裂殖体, 厚度平均为 67.9 ± 15.5 μm。原虫形状呈圆形, 椭圆形或不规则, 分叶明显, 多数原虫内有液泡。裂殖体的核清晰, 直径 1~2 μm。#26 猴经检查 373 张切片未发现原虫, 但在 d 9 如期出现原虫血症。ig NQ 的 4 只猴, 3 只分别检查 0.83, 2.05 和 4.30 mm^3 肝组织, 均未发现原虫。只有 #6 猴于 d 9 的 220 张连续切片(11.0mm^3)发现两个裂殖体。其中切得完整的一个为 $42 \times 30 \times 30$ μm, 形状不规则, HE 染色显示核着色较浅, 染色偏红, 边缘不清晰。核大小相差较悬殊, 直径一般为 1~2 μm, 个别呈团块状, 直径达 3~6 μm(图 1, 见图版 4 页)。这 4 只猴有 3 只分别在 d 40, d 41 和 d 53 血中查出原虫, 另 1 只观察半年未出现原虫血症。

复方 NQ 对食蟹猴疟的根治作用 21 只猴接种子孢子后, 18 只猴在 d 8 或 d 9、其余 3 只分别于 d 11, d 12 和 d 15 在血中查见原虫。此后 ig 复方 NQ 5 d 或 8 d, 原虫血症均在开始灌药后 2~6 d 内全部消失, 51~72 d 后部分猴重新出现原虫血症(表 2), 其余观察半年未见原虫。ig 复方 NQ 8 d 组, 原虫复发的猴较少(2/7), 而 ig 磷酸氯喹组的原虫血症消失虽较快(药后 2~3 d), 但在 29~51 d 有 5/8 的猴复发。服复方 NQ 与磷酸氯喹的两组猴原虫复发率无明显差异。

讨 论

猴接种子孢子后 ig NQ, 疟原虫组织期裂殖体的形态改变与红细胞内期滋养体及孢子增殖期中卵囊的改变相类似, 即细胞核停止分裂, 红细胞内期大滋养体的核异常增大而不分裂, 卵囊的核呈团块状。接种子孢子后 d 9 的组织期裂殖体的核有些也呈团块状。因此, NQ 对疟

Tab 1. Action of nitroquine (NQ) on the tissue schizonts of *P. cynomolgi*

Drug	Monkey		Number of sporozoits	Days of treatment	Time of liver biopsy	Schizonts /mm ³	Patent parasitemia
	No.	S W(kg)					
—	26	♀ 2.8	4 × 10 ⁶ ip		d 7	0	d 9
	500	♀ 2.5	4 × 10 ⁶ ip		d 7	0.53	d 9
	41	♀ 4.4	1 × 10 ⁷ iv		d 7	3.5	d 9
					d 9	16	
	37	♀ 2.9	1 × 10 ⁷ iv		d 7	3.2	*
NQ	50	♂ 3.4	1.3 × 10 ⁷ iv	3 d	d 7	0	d 41
				5 d	d 9	0	
	46	♀ 4.1	1.3 × 10 ⁷ iv	3 d	d 7	0	—
				5 d	d 9	0	
	13	♂ 2.6	3 × 10 ⁶ iv	4 d	d 9	0	d 40
	6	♂ 3.0	3 × 10 ⁶ iv	4 d	d 9	0.13	d 53

* Monkey died from overdose of anesthesia on d 7, and no parasitemia was found.

Tab 2. Action of NQ and chloroquine (CQ) on the relapse of *P. cynomolgi*

	Dosage (mg/kg/d × d)	Monkeys		Time of relapsed
		Treated	Relapsed	
NQ	5 × 8	7	2	d 53, d 65
NQ	5 × 5	6	3	d 51, d 53, d 72
CQ base	20 × 3	8	5	d 29, d 31, d 31, d 35, d 51

原虫各期的作用可能有共同点,即抑制核分裂。本实验NQ组的裂殖体核染色较肝细胞核和未用药的组织期裂殖体核着色浅且偏红,即DNA含量偏低。曾发现NQ的抗疟作用可被PABA拮抗^(7,8),提示NQ通过影响原虫的叶酸代谢,进而抑制DNA的合成。细胞核的分裂受抑制可能是DNA合成障碍所致。

我们曾研究过伯喹(1 mg/kg/d)对组织期裂殖体的作用,发现猴给药4 d后,原虫胞浆出现许多空泡,与NQ作用后的形态变化迥异。这反映两药对组织期裂殖体虽都有作用,但作用方式不同。

用小剂量NQ治疗食蟹猴疟,虽使组织期数目大为减少,且形态发生改变,但不能完全根治疟疾。氨基胍对NQ虽有增效作用⁽⁹⁾,两

者合用仍未能达到全部根治。由于NQ的作用是抑制核分裂,对处在休眠态的组织期原虫(休眠体)作用较弱,因而不能阻止复发。NQ治疗食蟹猴疟RO株或RO/PM株,剂量高达50 mg/kg/d × 7亦未能达到根治,且复发较快(停药后1月内)⁽⁶⁾。因此,将NQ用于根治尚需研究。

致谢 部分组织切片由古德全和罗长坤同志协助完成

参 考 文 献

- 1 王兴相、胡友梅、董丽娟、邓宝忠. 药学报 1981; 16 : 334
- 2 冯崇英、胡友梅、柳燕,等. 中国药理学报 1982; 3 : 273

- 3 刘连珠、任慧娴、况明书、王兴相、杨 怡. 中华医学杂志 1980; 60 : 426
- 4 王兴相、冯崇英、况明书、任慧娴、邓宝忠. 同上 1980; 60 : 483
- 5 Schmidt LH, Rossan RN. *Am J Trop Med Hyg* 1979; 28 : 781
- 6 王兴相、胡友梅、邓宝忠. 寄生虫学与寄生虫病杂志 1984; 2 : 234
- 7 Thompson PE, Bayles A, Olszewski B. *Am J Trop Med Hyg* 1970; 19 : 12
- 8 朱青平、胡友梅、刘富安. 第三军医大学学报 1984; 6 : 183
- 9 胡友梅、任慧娴、李先珍. 氯苯胍对硝喹增效作用的研究. 见: 中国药学会编. 药理学进展. 第 1 版. 北京: 人民卫生出版社, 1981: 141

Acta Pharmacologica Sinica 1986 Jan, 7 (1) : 78-81

ACTION OF NITROQUINE ON TISSUE SCHIZONTS OF *PLASMODIUM CYNOMOLGI*

HU You-mei, WANG Xing-xiang, DENG Bao-zhong, LIU Fu-an, ZHU Qing-ping, KUANG Ming-shu

(Third Military Medical College, Chongqing 630038)

ABSTRACT Sporozoites of *P. cynomolgi* (Cambodian strain) were injected iv or ip into 29 monkeys. Four monkeys were treated with nitroquine acetate 2 mg/kg/d on d 4-11; 4 monkeys were untreated. Liver biopsies were performed on d 7 and d 9. Tissue schizonts were found in only 1 treated monkey, and the number of parasites was much less than that of the controls. The appearances of the tissue schizonts were characterized by the smaller size, lighter stained, and irregular size of nuclei. Thirteen monkeys were treated with nitroquine-DDS 5 mg/kg/d

× 5 d or 8 d when parasitemia appeared, and 8 monkeys were treated with chloroquine base 20 mg/kg/d × 3 d as control. Parasitemia of all the 21 monkeys disappeared after the treatment. However, 5/8 relapsed 1 month later in chloroquine group and 5/13 relapsed in 1.5-2 months in nitroquine groups.

The results suggest that the development of the tissue schizont can be suppressed by nitroquine on the nuclear division.

KEY WORDS antimalarials; nitroquine; dapsone; *Plasmodium cynomolgi*; tissue schizonts