

## 不同发育阶段的红内期恶性疟原虫对咯萘啶的敏感性

陈克涌、哈淑华、湛崇清、邵葆若 (中国预防医学科学院寄生虫病研究所<sup>1</sup>, 上海 200025)

**提要** 体外连续培养的 FCCI/HN 株恶性疟原虫, 经同步处理后的各红内期原虫与不同浓度的药液接触 8 h, 再无药培养 40 h, 以减虫率的变化测定不同红内期原虫对药物的敏感性, 以环状体期原虫对咯萘啶及氯喹最为敏感. 咯萘啶对环状体、滋养体及裂殖体的 ED<sub>50</sub> 分别为 8.3, 14.0 及 11.6 nmol/L. 咯萘啶的作用大于氯喹.

**关键词** 抗疟药, 咯萘啶, 氯喹, 恶性疟原虫, 微生物敏感性试验

咯萘啶, 2-甲氧基-7-氯-10-(3', 5'-双四

1986年3月3日收稿 1986年9月3日修回

<sup>1</sup> 世界卫生组织疟疾、血吸虫病及丝虫病合作中心.

氢吡咯-1-次甲基-4'-羟苯基)氨基苯骈[1,5]-萘啶, 由郑贤育等发明<sup>(1)</sup>, 它对鼠、猴体内的疟原虫有较强的杀灭作用, 临床报告它对人体疟原虫也有效<sup>(2)</sup>. 本文报道用微测法技术, 测定体外连续培养的不同发育阶段的红内期原虫对咯萘啶的敏感性.

### 材料和方 法

**虫种** 对氯喹敏感的 FCCI/NH 株恶性疟原虫, 转引自第二军医大学寄生虫学教研室, 作连续培养<sup>(3)</sup>.

**药品** 磷酸咯萘啶注射液为杭州第一制药厂产品, 磷酸氯喹注射液为上海第十四制药厂产品, 药液浓度按基质计算, 原药用 5% 葡萄糖生理盐水成倍稀释。

**疟原虫的同步处理及敏感性测定** 用 RPMI 1640 完全培养液连续培养的恶性疟原虫发育到以环状体为主时, 参照文献(4)法, 用 5% 甘露醇连续处理两次后, 环状体占总原虫数的 98%, 再用刚洗涤过的新鲜 rbc 和完全培养液配成含虫率为 0.5%、rbc 压积为 2.5% 的虫血悬液。将其分成三等份, 两份留着制备滋养体(T)板及裂殖体(S)板, 一份立即制备环状体(R)板, 测试环状体期原虫对咯萘啶及氯喹的敏感性<sup>(5)</sup>。每孔加入 20  $\mu$ l 药液和 180  $\mu$ l 上述虫血悬液, 同一浓度用 4 孔。对照组 4 孔内各加入 20  $\mu$ l 5% 葡萄糖生理盐水和 180  $\mu$ l 虫血悬液。测试板置 CO<sub>2</sub>(5%) 孵箱培养 8 h 后, 吸除各孔含药及不含药的培养液, 加入原量的完全培养液, 继续培养 40 h。

同步处理后留下的另两份环状体虫血悬液分别培养 16 与 30 h, 待其发育到滋养体与裂殖体各占原虫总数的 96% 和 91% 时, 离心去除原培养液, 更换等量新鲜培养液, 再按制作 R 板的方法制 T 板和 S 板, 各孔原虫接触药 8 h 后

换正常培养液, 继续培养 40 h。

培养中止时, 取各孔内容物作薄血膜, 吉氏液染色, 用光学显微镜计数 10<sup>4</sup> rbc 中的原虫数, 得出同一浓度 4 孔的平均含虫率后, 求减虫率。实验共进行 4 次。

## 结 果

环状体接触咯萘啶 19.3 nmol/L 后全部死亡, 滋养体和裂殖体接触该药后的减虫率分别为 45% 和 8%; 浓度为 38.6 nmol/L 时, 裂殖体期原虫尚不能全部被杀死(表1)。氯喹 31.3 nmol/L 作用于环状体及滋养体期后, 原虫减虫率分别为 65.0% 和 22%, 裂殖体接触药液后的减虫率为 16%; 62.5 nmol/L 作用于环状体、滋养体和裂殖体后的减虫率分别为 93, 96 和 60% (表 1)。

用 Finney's 法, 经计算机计算, 得咯萘啶对环状体、滋养体及裂殖体期原虫的 ED<sub>50</sub> (95% 置信限分别为 8.3(8.1-8.4), 14.0(13.4-14.7) 及 11.6(11.4-11.9) nmol/L 以环状体期原虫对咯萘啶最敏感。同样算得氯喹对环状体、滋养体及裂殖体期原虫的 ED<sub>50</sub> (95% 置信限) 分别为 24.5(24.3-24.8), 34.0(32.4-35.6) 及 64.9(58.1-72.4) nmol/L, 它们的置信限范

Tab 1. Sensitivity of different stages of *Plasmodium falciparum* exposed to drug for 8 h and cultured in drug-free medium for further 40 h.

	Concn of base nmol/L	Ring stage		Trophozoite stage		Schizont stage	
		Parasite rate(%)	Reduction rate(%)	Parasite rate(%)	Reduction rate(%)	Parasite rate(%)	Reduction rate(%)
Pyronaridine	0	4.5±0.5	-	5.6±0.7	-	5.6±0.8	-
	2.4	4.3±0.5	4.0	5.3±0.8	6.1	5.4±0.4	4.6
	4.8	4.0±0.9	11.3	4.6±0.6	17.6	5.46±0.24	3.4
	9.6	2.8±0.7	39.2	4.4±0.4	20.1	5.1±0.6	10.1
	19.3	0	100	3.1±0.4	45.1	5.2±0.5	8.0
	38.6	-	-	0	100	0.015±0.019	99.7
	ED <sub>50</sub> (nmol/L)		8.3		14.0		11.6
95% CL		8.1-8.4		13.4-14.7		11.4-11.9	
Chloroquine	0	4.8±0.4	-	6.3±0.9	-	6.8±0.8	-
	7.8	4.8±0.3	0	5.45±0.05	13.5	6.6±0.6	2.6
	15.6	4.5±0.8	6.5	5.9±0.3	6.0	5.6±0.4	18.2
	31.3	1.68±0.25	65.0	4.92±0.27	21.9	5.7±0.9	16.0
	62.5	0.32±0.08	93.3	0.27±0.18	95.7	2.7±0.6	59.8
	ED <sub>50</sub> (nmol/L)		24.5		34.0		64.9
	95% CL		24.3-24.8		32.4-35.6		58.1-72.4

围互不重叠,表明这3期原虫对氯喹的敏感性有显著性差异。此外,氯喹与咯萘啶对各期原虫的 $ED_{50}$ 相比较,其比值均大于1,且相应各期原虫的 $ED_{50}$ 置信限范围不重叠,表明咯萘啶对该株原虫的作用大于氯喹。

## 讨 论

本实验所用 FCC 1/HN 株原虫已在体外培养了5年多,仍对氯喹敏感,测得氯喹对 R、T 及 S 期原虫的  $ED_{50}$  为 24.5, 34.0 及 64.9 nmol/L, 稍低于周元昌等报告的 52.8, 72.5 及 117.9 nmol/L<sup>(6)</sup>, 可能和实验所用的起始原虫率(后者的起始原虫率为 1.2%)不同等有关。但本实验 4 次测定各期原虫对氯喹敏感性的结果与文献(6)报告的相符,即红内期恶性疟原虫对氯喹的敏感性顺序是环状体>滋养体>裂殖体。

本实验结果同时证实了动物体内实验的结果<sup>(1)</sup>, 即咯萘啶的抗疟作用比氯喹强。

## 参 考 文 献

- 1 郑贤育、夏毅、高芳华、郭惠珠、陈昌。抗疟新药 7351 的合成。药学学报 1979; 14: 736
- 2 中国医学科学院寄生虫病研究所 原疟疾研究室 新药组。抗疟新药 7351 的疗效和毒性的实验研究。同上 1980; 15: 630
- 3 Trager W, Jensen JB. Human malaria parasites in continuous culture. *Science* 1976; 193: 673
- 4 Lambros C, Vanderberg JP. Synchronization of *Plasmodium falciparum* erythrocytic stages in culture. *J Parasitol* 1979; 65: 418
- 5 Yayon A, Vande Waa JA, Yayon M, Geary TG, Jensen JB. Stage-dependent effects of chloroquine on *Plasmodium falciparum* in vitro. *J Protozool* 1983; 30: 642
- 6 周元昌、管淮滨、黄文锦、潘卫庆。氯喹对体外培养的恶性疟原虫无性期各阶段的作用。中国药理学报 1983; 4: 137

*Acta Pharmacologica Sinica* 1987 Jul, 8 (4): 348-351

## Sensitivities of different stages of erythrocytic *Plasmodium falciparum* to pyronaridine

CHEN Ke-Yong, HA Shu-Hua, ZHAN Chong-Qing, SHAO Bao-Ruo

(Institute of Parasitic Diseases, Chinese Academy of Preventive Medicine<sup>1</sup>, Shanghai 200025)

**ABSTRACT** FCC 1/HN strain of *Plasmodium falciparum* sensitive to chloroquine was cultured and synchronous ring-forms were obtained with 5% mannitol. An infected blood suspension with 2.5% hematocrit and 0.5% ring-form parasites was divided into three parts to determine the sensitivity of the ring-forms, trophozoites and schizonts to pyronaridine separately. Each well on a 40-well plastic microculture plate was filled with 20  $\mu$ l drug solution and 180  $\mu$ l suspension of parasitized erythrocytes. The three synchronized erythrocytic stages of *P. falciparum* were

exposed to pyronaridine or chloroquine for 8 h and then cultured in normal medium for 40 h. At the end of cultivation, the mean parasite rates and the parasite reduction rates were calculated. The  $ED_{50}$  for pyronaridine were 8.3 (95% confidence limits 8.1-8.4), 14.0 (13.4-14.7) and 11.6 (11.4-11.9) nmol/L at ring, trophozoite and schizont stages, respectively. The  $ED_{50}$  for chloroquine were 24.5 (95% CL 24.3-24.8), 34.0 (32.4-35.6) and 64.9 (58.1-72.4) nmol/L at ring, trophozoite and schizont stages, respectively. The results showed that the ring form parasite is most

sensitive to both drugs. The efficacy of pyronaridine was greater than that of chloroquine.

**KEY WORDS** antimalarials; pyronaridine;

chloroquine; *Plasmodium falciparum*;  
microbial sensitivity tests

<sup>1</sup> WHO Collaborating Centre for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis

\* \* \* \* \*