

- of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy, in the treatment of angina pectoris, hypertension and related cardiovascular disorders. *Drugs* 1987; 33 : 296
- 6 Birx DL, Berger M, Fleisher TA. The interference of T cell activation by calcium channel blocking agents. *J Immunol* 1984; 133 : 2904
- 7 Kimball PM, Gamaz N, Sell S. Two episodes of calcium uptake associated with T-lymphocyte activation. *Cell Immunol* 1988; 113 : 107
- 8 Nicholls DG. Intracellular calcium homeostasis. *Br Med Bull* 1986; 42 : 353
- 9 Hanagan JR. Hypercalcemia in malignant disease. *Clin Ther* 1982; 5 : 102
- 10 Fuse A, Kuwata T. Inhibition of DNA synthesis and alteration of cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate levels in R5a cells by human leukocyte interferon. *J Natl Cancer Inst* 1978; 60 : 1227
- 11 Tsien RY, Pozzan T, Rink TJ. T-cell mitogens cause early changes in cytoplasmic free Ca^{2+} and membrane potential in lymphocytes. *Nature* 1982; 295 : 68
- 12 Segal J, Rehder M-C, Ingbar SH. Calmodulin mediates the stimulatory effect of 3, 5, 3'-triiodothyronine on adenylate cyclase activity in rat thymocyte plasma membranes. *Endocrinology* 1986; 119 : 2629
- 13 England PJ. Intracellular calcium receptor mechanisms. *Br Med Bull* 1986; 42 : 375

尼卡地平对小鼠免疫器官的形态、钙及腺苷环一磷酸水平的影响

陈蔚如、王士平²、谢瑛芸³、杨永新、金兰新、刘发、陈坚 (新疆医学院药理教研室,²组织胚胎教研室,³电镜室, 乌鲁木齐 830054, 中国)

摘要 尼卡地平 10 mg/kg sc qd × 4 d, 引起小鼠免疫器官形态结构的改变。淋巴结的生发中心明显减少, 脾脏白髓和胸腺的皮质轻度萎缩。在这些淋巴组织里, 小淋巴细胞明显增多, 淋巴细胞核的异染色质增加。在亚细胞水平, 尼卡地平损害各种细胞线粒体的结构, 除了上述形态学的改变, 小鼠外周血淋巴细胞的%, 免疫器官的钙含量及 cAMP 水平也明显降低。这些结果提示, 在整体条件下, 尼卡地平抑制淋巴细胞的分裂增殖, 这一作用可能和其减少免疫器官钙含量有关。尼卡地平对线粒体结构及功能的影响可能是其抑制免疫细胞功能的机理之一。

关键词 尼卡地平; 免疫性; 电子显微镜检查; 淋巴细胞; 钙; 腺苷环一磷酸

中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1990 Mar, 11 (2) : 176-180

细粒棘球蚴囊对 [³H]吡喹酮的摄入与分布

肖树华、孙惠良、杨元清、焦佩英、尤纪青、郭惠芳 (中国预防医学科学院寄生虫病研究所¹, 上海 200025, 中国) 柴若杰 (新疆地方病防治研究所, 乌鲁木齐 830002, 中国)

Uptake and distribution of [³H]praziquantel in *Echinococcus granulosus* cysts

XIAO Shu-Hua, SUN Hui-Liang, YANG Yuan-Qing, JIAO Pei-Ying, YOU Ji-Qing, GUO Hui-Fang (Institute of Parasitic Diseases, Chinese Academy of Preventive Medicine¹, Shanghai 200025, China) CHAI Jun-Jie (Xinjiang Institute For Endemic Disease Control and Reserch, Urumqi 830002, China)

Received 1989 Apr 03 Accepted 1989 Aug 23

¹ WHO Collaborating Center for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis.

ABSTRACT [³H] Praziquantel was absorbed rapidly by the cysts in mice infected with metacystodes of *Echinococcus granulosus* and treated with ig [³H]praziquantel 400 mg/kg (containing ³H 1.48 MBq). Within 24 h after treatment, ³H content in the ectocyst was 27.7-54.9% higher than that in cyst wall. The peak concentration of ³H in cyst wall and cyst fluid were 11.7-15.3% of those found in plasma. However, when the cysts were exposed to [³H]praziquantel 20 µg/ml (containing ³H 3.7 kBq), the ³H radioactivity in the cyst wall and cyst fluid reached equilibrium within 30 min-48 h after medication, corresponding to 45.5-63.3% of ³H radioactivity in the medium. Autoradiography showed that

[³H]praziquantel entered into the germinal layer through ectocyst and laminated layer. The damage to germinal layer was related closely to deposition of the drug.

KEY WORDS *Echinococcus*; praziquantel; autoradiography

摘要 感染小鼠 1 次 ig [³H] 吡喹酮 400 mg/kg (含 ³H 1.48 MBq) 后 24 h, 内囊壁的 ³H 含量较外囊的低 27.7-54.9%, 内囊壁与囊液的 ³H 峰值为血浆的 11.7-15.3%。用含 [³H] 吡喹酮 20 μg/ml (含 ³H 3.7 kBq) 的培养液培养细粒棘球蚴囊时, 内囊壁与囊液的 ³H 平衡时的浓度, 为培养液中的 45.5-63.6%。 [³H] 吡喹酮系通过外囊经由角质层进入生发层, 且 [³H] 吡喹酮积聚部位的病变明显。

关键词 棘球属; 吡喹酮; 放射自显影术

前文⁽¹⁾报道感染继发性细粒棘球蚴的小鼠用吡喹酮(praziquantel)治疗时, 吡喹酮可迅速进入囊壁(即内囊壁)和囊液中, 并随血中药浓度的高低而消长。本文用 [³H] 吡喹酮观察细粒棘球蚴囊对药物的摄入、释放与分布。

MATERIALS AND METHODS

原头节(protozoex)系按前文⁽²⁾方法, 从自然感染细粒棘球蚴的绵羊取含原头节的囊液备用。NIH 小鼠, ♀, 体重 20.0±1.6 g, 每鼠自腹腔接种原头节 2000 个, 接种 6-10 个月后进行试验。

[³H] 吡喹酮由中国科学院上海原子核研究所标记, 比放射度为 0.36 TBq/mmol, 放射纯度为 95% 以上, 非标记吡喹酮由上海第六制药厂合成, 口服给药时, 将 [³H] 吡喹酮用溶于聚乙二醇(PEG 400)的非标记吡喹酮稀释, 吡喹酮的浓度为 40 mg/ml, 含 ³H 7.4 MBq/ml。体外试验时, 用溶于 PEG 400 和 RPMI 1640 的非标记吡喹酮稀释 [³H] 吡喹酮, 使吡喹酮的浓度为 1 mg/ml, 含 ³H 0.19 MBq/ml。

体内试验 感染细粒棘球蚴的小鼠, 1 次 ig [³H] 吡喹酮 400 mg/kg (含 ³H 1.48 MBq), 并于给药后不同时间, 以 2-3 只小鼠为 1 组, 摘取眼球放血, 肝素抗凝, 分离血浆, 同时剖

取细粒棘球蚴囊, 测定其 [³H] 吡喹酮含量, 另取部分囊固定于 10% 中性福尔马林中, 备作放射自显影。

体外试验 自感染原头节的小鼠剖取直径约 0.5-1 cm 的细粒棘球蚴囊作体外培养。培养液为含 20% 小牛血清-RPMI 1640, 加青霉素、链霉素各 500 IU/ml 和两性霉素 B 0.25 μg/ml。先在容量为 30 ml 的细胞培养瓶或 20 ml 的有塞试管中, 注入上述培养液 4.9 ml, 然后加入细粒棘球蚴囊 2-3 个, 在 37°C 中培养 30 min, 再加入上述配制的 [³H] 吡喹酮溶液 0.1 ml, 使吡喹酮的终浓度为 20 μg/ml (含 ³H 3.7 kBq/ml)。培养不同时间后, 移去药液, 用冰冷的亨氏盐平衡溶液(HBSS)将囊洗涤 3 次, 然后取囊壁及囊液测定 [³H] 吡喹酮含量。

³H 含量测定及囊壁放射自显影 将待测的囊组织、囊液和血浆等按常规消化, 加入二甲苯乙二醇乙醚闪烁液 10 ml (含 PPO 4 g/L, POPOP 0.1 g/L, 萘 75 g/L)⁽³⁾, Beckman LS-7500 型液体闪烁计数器测定 ³H 含量。

取上述固定于福尔马林中的细粒棘球蚴囊, 用石蜡包埋切片, 片的厚度为 5-7 μm, 涂敷 1:2 的核 4 乳胶, 置冰箱暗盒内曝光 4-5 wk, 放射自显影的显影与定影分别用含柠檬酸钠和亚硫酸的 0.3% 2,4-二氨基酚盐, 及 40% 硫代硫酸钠制作, 切片最后用 HE 染色, 在 6×40 光学显微镜下对每一切面的 1 mm² 内的 ³H 放射自显影银粒计数, 每组观察的切面, 除少数为 5 个外, 一般为 10-25 个。

RESULTS

受染小鼠给药后, 血浆与细粒棘球蚴囊的 ³H 含量

1 外囊与内囊囊壁(简称囊壁, 下同) 感染小鼠 1 次 ig [³H] 吡喹酮 400 mg/kg (³H 1.48 MBq) 5 min, 即见有相当量的 ³H 进入外囊, 15 min 后达 22 259±15 557 dpm/0.1 g, 随后缓慢增加, 2 h 后达峰值, 以后逐渐下降, 至 24 h 后残留 6559±1934 dpm/0.1 g。 ³H 亦迅速进

入囊壁, 15 min 后达 $10\,040 \pm 5\,068$ dpm/0.1 g, 并保持平稳, 8 h 后逐渐下降, 24 h 后残留 4739 ± 764 dpm/0.1 g. 在上述时间内, 囊壁的 ^3H 含量较外囊的低 27.7-54.9%. 进一步求得外囊与内囊各配对组差数的均数, 作显著性检验, $P < 0.01$, 即外囊与内囊的 ^3H 含量的差别显著 (Tab 1).

Tab 1. [^3H] Radioactivity of *Echinococcus granulosus* cysts in mice treated with ig [^3H] praziquantel 400 mg/kg. $\bar{x} \pm \text{SD}$.

Time after medication (h)	Cysts	[^3H] Radioactivity (dpm/0.1 g wet weight)	
		Ectocyst	Endocyst wall
0.08	4	9431 ± 5858	5203 ± 1866
0.25	5	22259 ± 15557	10040 ± 5068
1	4	23228 ± 10202	11794 ± 3814
2	3	26520 ± 2089	11801 ± 4899
4	9	11972 ± 6007	10682 ± 5694
8	5	15003 ± 13009	8461 ± 4715
24	4	6559 ± 1934	4739 ± 764

The means of differences of paired groups in ectocyst and endocyst wall were calculated and *t* test was made, $P < 0.01$.

2 血浆、囊壁与囊液 给药后 15 min, 血浆的 ^3H 含量即达峰值 $121\,707 \pm 70\,696$ dpm/0.1 ml, 以后迅速下降, 24-48 h 后仅残留微量. 给药后 5 min, 进入囊壁的 ^3H 含量为 3542 ± 2232 dpm/0.1 g, 1 h 后达峰值 $14\,209 \pm 965$ dpm/0.1 g, 相当于血浆峰值的 11.7%, 嗣后, 在血浆的 ^3H 含量迅速下降时, 囊壁的 ^3H 含量在 8 h 内较平稳, 48 h 后残留 1244 ± 1215 dpm/0.1 g. [^3H]吡喹酮亦迅速进入囊液, 在最初的 5 min, 其含量稍低于囊壁, 15 min 后囊液的 ^3H 含量与囊壁的相仿, 4-8 h 后稍有增加, 达 $18\,308 \pm 8\,432 \sim 18\,592 \pm 10\,873$ dpm/0.1 ml, 为血浆峰值的 15~15.3%, 24 h 后 ^3H 含量下降, 48 h 后残留 1735 ± 2289 dpm/0.1 ml. 在给药后的 8 h 内, 血浆的 ^3H 含量显著高于囊壁和囊液的, 但后两组间的 ^3H 含量则无明显差别 (Fig 1 A).

体外培养的细粒棘球蚴囊对 [^3H] 吡喹酮的摄入与释放

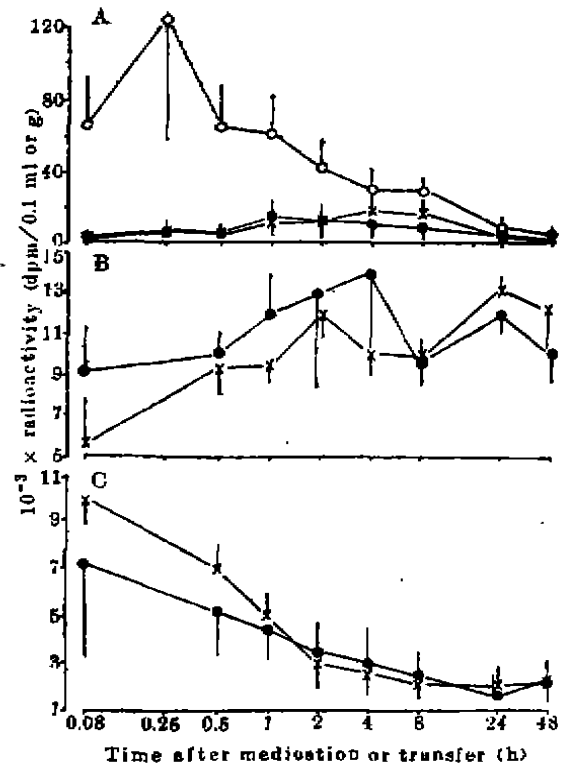


Fig 1. [^3H] Radioactivity in plasma, endocyst and cyst fluid of *Echinococcus granulosus*. A) Infected mice treated with ig [^3H] praziquantel 400 mg/kg, $n = 5-16$ samples; B) After exposure of cysts to [^3H] praziquantel 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ for 48 h, $n = 10-16$ samples; C) After transfer of cysts, previously exposed to [^3H] praziquantel 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ for 2 h, to drug-free medium, $n = 11-12$ samples. Plasma (\circ), Cyst fluid (\bullet), Endocyst (\times). $\bar{x} \pm \text{SD}$.

1 对 [^3H] 吡喹酮的摄入 细粒棘球蚴囊在含 [^3H] 吡喹酮 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (含 ^3H 3.7 kBq) 的培养液中培养 5 min 后, 即见 ^3H 吡喹酮进入囊壁与囊液中, ^3H 含量分别为 9141 ± 5091 dpm/0.1 g 和 5793 ± 5593 dpm/0.1 ml, 30 min 后 ^3H 含量趋于平衡, 在 48 h 内, 除少数组外, 囊壁与囊液的 ^3H 含量介于 $10\,000-14\,000$ dpm/0.1 g 或 0.1 ml, 相当于加至培养液的 ^3H 量的 45.5-63.6%. 此外, 在培养的 4 h 内, 囊壁的 ^3H 含量稍高于囊液的, 4 h 后则相反, 但无显著差别 (Fig 1 B).

2 摄入的 [^3H] 吡喹酮的释放 将细粒棘球蚴囊在上述含 [^3H] 吡喹酮的培养液中培养 2 h

后, 移去药液, 用 HBSS 将囊洗涤 3 次, 其囊壁与囊液的 ^3H 含量各为 7368 ± 3961 dpm/0.1 g 和 10241 ± 1226 dpm/0.1 ml. 若将洗涤后的囊置于不含药物的 20% 小牛血清-RPMI 1640 中培养, 则囊壁和囊液中的 ^3H 吡喹酮均迅速被释放, 30 min 后, 囊壁与囊液的 ^3H 含量分别降至 4461 ± 1301 dpm/0.1 g 和 5174 ± 960 dpm/0.1 ml, 即已释放摄入量的 40-50%, 以后则缓慢释放, 至 24 h, 囊壁与囊液的 ^3H 含量分别降至 2313 ± 1056 dpm/0.1 g 和 2343 ± 814 dpm/0.1 ml, 即各有 68.9% 和 77.1% 的 ^3H 已被释放 (Fig 1 C).

吡喹酮在细粒棘球蚴囊中的分布 感染小鼠 1 次 ig ^3H 吡喹酮 400 mg/kg 后 5 min, 即在细粒棘球蚴囊的外囊中查见有较多的 ^3H 放射自显影的银颗粒沉积, 囊壁的角质层亦有少量 ^3H 银颗粒, 生发层则未查见 ^3H 银颗粒 (Fig 2 A). 给药后 1-48 h, 外囊的 ^3H 银颗粒逐渐减少, 角质层的趋于平稳, 而生发层的 ^3H 银颗粒在给药后的 4 h 内逐渐增加和趋于平稳 (Tab 2). 给药后 4 h 内未见生发层有明显变化, 8-48 h 后则亦有不同程度的变化. 自各组取囊 10 只, 作 200 个切面观察, 8 h 组生发层

Tab 2. ^3H Autoradiographic silver grains in tissues of *Echinococcus granulosus* cysts in mice treated with ig ^3H praziquantel 400 mg/kg.

Time after medication (h)	Silver grains/mm ² ($\bar{x} \pm \text{SD}$)		
	Ectocyst	Laminated layer (n=20)	Germinal layer (n=20)
0.08	5.7 ± 2.2 (15)	3.1 ± 1.3	0.7 ± 0.8
0.5	—	4.3 ± 1.3	2.8 ± 1.4
1	5.1 ± 3.6 (10)	6.3 ± 1.7	4.1 ± 1.2
2	4.5 ± 2.6 (10)	6.7 ± 1.2	5.0 ± 3.2
4	4.0 ± 2.2 (5)	6.7 ± 2.0	5.3 ± 3.0
8	3.3 ± 1.8 (10)	6.5 ± 2.3	6.4 ± 3.5
24	2.9 ± 1.6 (10)	6.8 ± 2.0	7.5 ± 2.7
48	2.5 ± 1.7 (10)	5.7 ± 2.6	6.7 ± 3.7

正常的为 29%, 生发层粗糙、肿胀和疏松的为 44%, 空泡变化的为 15%, 核浓染的为 4%, 而有坏死脱落的为 8%; 24-48 h 组的上述生发层变化依次为 14-18%, 30-38%, 25%, 6-7% 和 17-18%. 在查见银颗粒的相应部位的生发层, 其病变较明显 (Fig 2 A, B, C, D), 反之, 生发层的变化较轻微或无明显变化. 取本批试验的 10 只对照囊, 作 200 个切面观察, 其生发层正常的为 87.5%, 生发层粗糙、肿胀和疏松的为 7.5%, 有空泡变化的为 2.5%, 核

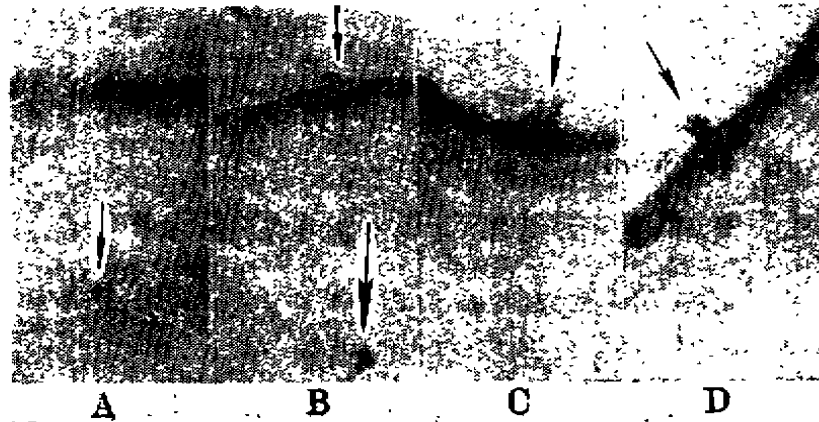


Fig 2. Autoradiography of *Echinococcus granulosus* cysts harbored in mice treated with ig ^3H praziquantel 400 mg/kg. ($\times 400$). A) 5 min after treatment, showing sparse silver grains (arrow) in laminated layer of the cyst; B) 8 h, showing more silver grains in laminated layer (large arrow) and surface of germinal layer (small arrow); C) 24 h, showing silver grains aggregated in local germinal layer accompanied by degeneration and necrosis (arrow); D) 48 h, showing more silver grains (arrow) in germinal layer accompanied by apparent swelling of the tissues.

浓染为1%，而有坏死脱落的为1.5%。

DISCUSSION

感染细粒棘球蚴的小鼠ig [^3H]吡喹酮后，药物迅速通过外囊进入内囊，且前者含量高于后者。我们曾在小鼠的继发性细粒棘球蚴外囊的内外层查见有毛细血管，而内囊壁与外囊紧邻的角质层则未查见有任何毛细血管或淋巴管，因此，内囊药物含量的高低，可能取决于外囊毛细血管内的血药浓度。 ^3H 测定的结果表明，在体内，囊壁与囊液的 ^3H 含量峰值约为血浆的1/7-1/9，而进入体外培养的囊壁与囊液的 ^3H 量，则约为加至培养液中的1/4-2/3，这种差异可能是由于ig药物后，血药浓度受药物吸收和降解的影响，处于动态变化中，这与体外衡定的药浓度有所不同；另一方面，被吸收的吡喹酮，一大部分与蛋白质结合⁽⁴⁾，由于大分子蛋白质难以进入细粒棘球蚴囊⁽⁵⁾，因此可能只有游离的[^3H]吡喹酮易于进入囊内，此外，在体内给药后4-8 h，当血浆的 ^3H 含量已明显下降时，囊壁的 ^3H 浓度未见减少，而囊液的则有一些增加，这与用非标记的吡喹酮观察时，囊壁与囊液的药物浓度随血药浓度而消长的结果⁽¹⁾有所不同，这可能是在所测得的 ^3H 中，除吡喹酮原药外，尚有部分 ^3H 为吡喹酮的代谢物。

放射自显影的结果表明，[^3H]吡喹酮系从外囊通过角质层进入生发层和囊腔的，同时由于在受损的生发层查见有[^3H]吡喹酮沉积，故生发层的变性、坏死可能与药物的直接作用有关。鉴于生发层对吡喹酮较不敏感，故吡喹酮虽有破坏生发层的作用，但停药后，未受损的生发层可迅速增生、修复，这可能是影响吡喹酮疗效的因素之一。

REFERENCES

- 1 Xiao SH, You JQ, Yang YQ, et al. Histological alterations and drug concentrations in endocysts and cyst fluid of hydatid cyst harboring in mice treated with praziquantel. *Acta Pharmacol Sin* 1988; 9 : 461
- 2 Xiao SH, You JQ, Guo HF, et al. Studies on antihydatidosis drugs. I. The *in vitro* effects of praziquantel on protoscoleces of *Echinococcus granulosus*. *Endemic Dis Bull* 1987; 2 : 43
- 3 Xiao SH, Yu YG, Wang CY, Jiao PY, Yuan XJ, Liang YY. The uptake and distribution of ^3H -pyquiton in *Schistosoma japonicum*. *Acta Pharm Sin* 1981; 16 : 488
- 4 Steiner K, Garbe A, Diekmann HW, Nowak H. The fate of praziquantel in the organism I. Pharmacokinetics in animals. *Eur J Drug Metab Pharmacokin* 1976; 1 : 85
- 5 Coltorti EA, Varela-Diaz VM. IgG levels and host specificity in hydatid cyst fluid. *J Parasitol* 1972; 58 : 753

中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1990 Mar; 11 (2) : 180-184

巯基化合物对杀虫单、沙蚕毒素和卡特普急性中毒的解毒作用

曹伯进¹、陈志康 (温州医学院药理学教研室, 温州 325003, 中国)

池志强 (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031, 中国)

Antidotal effects of sulfhydryl compounds on acute poisonings by sodium ammonium dimethyl-2-(propano-1,3-dithiosulfate) monohydrate, nereistoxin and cartap

CAO Bo-Jin, CHEN Zhi-Kang (Department of Pharmacology, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325003, China)

CHI Zhi-Qiang (Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Received 1988 Dec 6 Accepted 1989 Sep 2

¹ Now in Hu-nan Institute of Pharmaceutical Industry, Changsha 410014, China

ABSTRACT Sodium dimercaptopropanesulpho-