

蒿乙醚与蒿甲醚抗日本血吸虫作用的组织学和组织化学比较

殷静雯、杨元清、肖树华、李英¹、姜洪建¹

(中国预防医学科学院寄生虫病研究所, 世界卫生组织疟疾、血吸虫病、丝虫病合作中心, 上海 200025, 中国)

Comparative studies on histological and histochemical alterations of *Schistosoma japonicum* induced by arteether and artemether

YIN Jing-Wen, YANG Yuan-Qing, XIAO Shu-Hua, LI Ying¹, JIANG Hong-Jian¹
(Institute of Parasitic Diseases, Chinese Academy of Preventive Medicine; WHO Collaborating Center for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis, Shanghai 200025, China)

ABSTRACT Mice infected with 100 and 50 *Schistosoma japonicum* cercariae for 7 and 35 d respectively were treated with im arteether 100 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ or arteether 100 and 300 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ for 2 d. The mice were killed at different intervals within 28 d after medication and the livers were sectioned for histological and histochemical observations. The results showed that both arteether and arteether caused degeneration in the tegument, intestine and genital gland of the hepatic-shifted worms. The glycogen content and alkaline phosphatase (AKP) activity of schistosomula and adult worms decreased 7 d after treatment, especially remarkable in arteether 300 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ group.

KEY WORDS *Schistosoma japonicum*; histology; histochemistry; arteether; artemether

提要 给感染尾蚴 100 条后 7 d 和 50 条后 35 d 的小鼠分别 im 蒿甲醚 100 mg · kg⁻¹ · d⁻¹、蒿乙醚 100 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 和 300 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 后, 发现蒿甲醚和蒿乙醚均能引起肝移成虫体表、肠管和生殖腺等明显退行变性。组织化学研究表明, 这些药物能使肝期童虫和成虫体内糖原含量急剧减少和 AKP 活性减弱, 以蒿乙醚 300 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 治疗组的为最显著。

关键词 日本血吸虫; 组织学; 组织化学; 蒿乙醚; 蒿甲醚

蒿甲醚系青蒿素的醚类衍生物⁽¹⁾, 不仅具有抗疟作用^(2,3), 而且还具有抗血吸虫的作用^(4,5)。近年来, 青蒿素的另一醚类衍生物蒿乙醚受到国外的重视, 认为其毒性较低和稳定, 脂溶性更大, 有可能发展成为一个较好的抗疟药⁽⁶⁾。因此, 我们在过去初筛⁽⁷⁾的基础上合成了蒿乙醚, 并应用组织学和组织化学方法观察与比较了其与蒿甲醚的抗日本血吸虫的作用。

MATERIALS AND METHODS

蒿甲醚由广西桂林制药厂赠送。蒿乙醚由中科院上海药物所合成。实验时将药物溶于冷餐油中, 蒿甲醚的浓度为 2%, 蒿乙醚的为 2% 或 6%。小鼠 im 的容量为 5 ml · kg⁻¹。

动物和实验方法 取 ♀ ♂ 性昆明种小鼠, 体重为 20.0 ± SD 1.5 g, 由本所动物室提供。小鼠于腹部皮肤感染日本血吸虫尾蚴 100 条后 7 d 和感染尾蚴 50 条后 35 d, 分别 im 蒿甲醚 100 mg · kg⁻¹ · d⁻¹、蒿乙醚 100 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 或 300 mg · kg⁻¹ · d⁻¹, 连给 2 d。受治鼠于治毕后 1, 3, 7, 14 和 28 d, 每组各剖杀 2 只, 取肝组织分别用 10% 福尔马林, 4℃ 无水酒精及丙酮固定, 作 7 μm 厚石蜡连续切片。将给药组和感染不治疗组的切片置于同一染缸内进行 HE 常规病理染色, Hotchkiss 的过碘酸-Schiff (PAS) 反应或 Gomori 的钙-钴法染色, 分别显示组织形态, 糖原或碱性磷酸酶。在每组切片内选择部位相同或近似的虫体断面各 30 个, 观察比较两种药物引起的肝期童虫和成虫的组织形

Received 1991 Jan 10

Accepted 1991 Jun 10

¹ Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China

态, 皮层和实质细胞内 AKP 活性与糖原含量的变化, 并以感染不治疗组的作为对照。

RESULTS

组织学观察 感染尾蚴 7 d 后, 童虫主要分布于肝脏汇管区的小叶间静脉内。经蒿甲醚或蒿乙醚连续治疗 2 d 后的 d 1, 3, 童虫皮层出现轻度浊肿, 至 d 7, 童虫皮层破裂, 实质细胞明显减少, 同时伴有淋巴细胞和嗜酸粒细胞的浸润。其作用以蒿乙醚 $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 组的较为显著 (Fig 1A, Plate 4)。感染尾蚴 35 d 后, 经蒿甲醚或蒿乙醚连治 2 d 后的 d 1, 3, 肝移成虫有轻度肿胀, 至 d 7, 部分虫体的体表出现浊肿或空泡样变, 肠管扩张或破裂, 肠管色素外溢或消失, 生殖腺细胞则示有萎缩或坏死 (Fig 1D, Plate 4)。停药后 14–28 d, 肝内查见死虫肉芽肿, 在死虫的周围有大量纤维组织增生, 并有中性粒细胞和嗜酸粒细胞的浸润 (Fig 1G, Plate 4)。上述病理变化以蒿乙醚 $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 组的较为显著。

组织化学观察

1 糖原 7 d 童虫的皮层, 肌层和实质细胞内均查见糖原颗粒, 但颗粒细小, 分布稀疏。用蒿甲醚或蒿乙醚治毕后的 d 1, 3, 糖原 PAS 反应强度略有下降, d 7 后, 上述部位除口、腹吸盘细胞内尚残留一些糖原颗粒外, 其余部位均明显减少或消失, 其中, 以蒿乙醚 $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 组的作用最强 (Fig 1B, Plate 4)。停药 28 d 后, 上述改变仍未见恢复。35 d 成虫的肌层和实质组织内含有丰富的糖原。经蒿甲醚或蒿乙醚治毕后的 d 1, 3, 糖原 PAS 反应渐呈弱阳性, 至 d 7, 成虫的各种肌纤维和实质组织内的糖原颗粒近乎消失 (Fig 1E, Plate 4)。停药 14–28 d 后, 肝内残存成虫的 PAS 反应仍为阴性。

2 AKP 7 d 童虫的皮层和实质细胞内

均示有 AKP 活性。在蒿甲醚或蒿乙醚治毕后的 d 1, 3, AKP 活性急剧减弱, 至 d 7, 上述部位的 AKP 反应呈显阳性。停药后 28 d, AKP 活性仍然很弱。其中, 以蒿乙醚 $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 对童虫实质细胞内 AKP 活性的抑制作用较强 (Fig 1C, Plate 4)。感染 35 d 成虫的小鼠分别用蒿甲醚或蒿乙醚治毕后 d 1, 3, 肝移成虫的 AKP 活性与对照组相比有所下降, 但至 d 7, 成虫体表和实质细胞内的 AKP 反应则呈阴性, 其中以蒿乙醚 $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 组的最为显著 (Fig 1F, Plate 4), d 28 时, 反应仍显阳性。

DISCUSSION

本文实验结果初步证实了蒿乙醚与蒿甲醚一样, 都能使肝期童虫和成虫的组织学发生病理改变及其糖原含量减少和 AKP 活力抑制等组织化学变化。提示了两种药物的作用机制可能与促使虫体能量的损耗有关。另一方面, 由于两种药物的作用部位也相似, 说明具有相同活性结构的不同药物对虫体组织学和组织化学的作用机制亦可能相同。

吡喹酮系目前抗血吸虫成虫及皮肤期童虫的较为理想的药物, 但对肝期童虫则疗效较差⁽⁹⁾。而与其化学结构完全不同的蒿甲醚与蒿乙醚等一些带有过氧基团的倍半萜类化合物却对肝期血吸虫童虫及成虫有明显的杀伤力, 说明不同结构药物的作用机制可能相异, 并为两种药物合并治疗血吸虫病提供了部分实验依据。

ACKNOWLEDGMENT 陈鼎同志协助显微摄影。

REFERENCES

- 1 Li Y, Yu PL, Chen YX, *et al.* Synthesis of some derivatives of artemisinin. *KEXUE TONGBAO* 1979; 24 : 667
- 2 Klayman DL. Qinghaosu (artemisinin): an antimalarial drug from China. *Science* 1985; 228 : 1049

- 3 Gu HM, Warhurst DC, Peters W. Rapid action of Qinghaosu and related drugs on incorporation of (H) isoleucine by *Plasmodium falciparum* in vitro. *Biochem Pharmacol* 1983; 32 : 2463
- 4 Le WJ, You JQ, Yang YQ, *et al.* Studies on the efficacy of artemether in experimental schistosomiasis. *Acta Pharm Sin* 1982; 17 : 187
- 5 Le WJ, You JQ, Mei JY. Chemotherapeutic effect of artesunate in experimental schistosomiasis. *Acta Pharm Sin* 1983; 18 : 619
- 6 Han GD. The development of the studies on qinghaosu and its derivatives. *Chin J Parasitic Dis Control* 1989; 2 : 135
- 7 Le WJ, You JQ, Mei JY, Wang GF, Xie RR. Antischistosomal action of some qinghaosu derivatives in infected mice. *Acta Pharm Sin* 1981; 16 : 561
- 8 Yue WJ, You JQ, Mei JY. Prophylactic activity of praziquantel in animals infected with *Schistosoma japonicum*. *Acta Pharmacol Sin* 1985; 6 : 186

Papers are welcome

Acta Pharmacologica Sinica publishes papers of a broad range of topics of general interest to pharmacologists and toxicologists, both experimental and clinical. Manuscripts in English of original research, from any country, are welcome.

The "Instructions to authors" appeared in *Acta Pharmacol Sin* 1991 Jan; 12 (1) : 1-6, which were essentially in accordance with the "Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals" published in *N Engl J Med* 1991 Feb 7; 324 (6) : 424-8 and *Br Med J* 1991 Feb 9; 302 (6772) : 338-41.

An ABSTRACT (no more than 150 words) is followed by 3-10 KEY WORDS, using terms from medical subject headings list from *Index Medicus* when possible. Mean values must be accompanied by SD (not SEM). Body weights are expressed in actually measured $\bar{x} \pm SD$. Do not include more significant figures in the data than are justified by the accuracy of the determinations. Use the Systéme International d'Unités (SI units). The statistical significances are indicated by * $P > 0.05$, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$. The number of REFERENCES should not exceed 15.

Please send manuscripts to *Acta Pharmacologica Sinica*, 319 Yue-yang Road, Shanghai 200031, China. Fax 86-21-437-0269. Telephone 431-1833. Telex 33275 CASS CN. Telegram 3434.