

280-284
蒿甲醚抗日本血吸虫的作用

尤纪青、梅静艳、肖树华 (中国预防医学科学院寄生虫病研究所、上海 200025、中国)

Effect of artemether against *Schistosoma japonicum*

YOU Ji-Qing, MEI Jing-Yan, XIAO Shu-Hua
(Institute of Parasitic Diseases, Chinese Academy of Preventive Medicine; WHO collaborating Centre for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis, Shanghai 200025, China)

ABSTRACT Artemether (β -methyl ether of artemisinin) first synthesized by Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences⁽¹⁾, appears in colorless crystal and is more lipid-soluble than artemisinin. When artemether was given ig or im to mice infected with *Schistosoma japonicum* for 32-35 d at the dosage of 1/10-1/2 LD₅₀. Its effects in the two administration routes were similar. After artemether 200 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ ig or 100 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ im for 1-2 d was given to mice infected with *S japonicum* cercariae at different intervals, d 7 schistosomules were more susceptible to the drug with worm reduction rates of 73.9-92.0%. The d 35 adult worms also exhibited susceptibility to the drug and the worm reduction rates were 47.0-70.1%, but less susceptibility to the drug in other developmental stages of schistosomes. The major morphological alteration of adult worms induced by artemether was sustained shrinkage accompanied by atrophy and degeneration of the worm's reproductive glands, eg. the testis in males and ovary as well as vitelline gland in females. The *in vitro* tests indicated that artemether showed apparent effects on different stages of schistosomes only when a higher concentration of 40 μ g · ml⁻¹ was used.

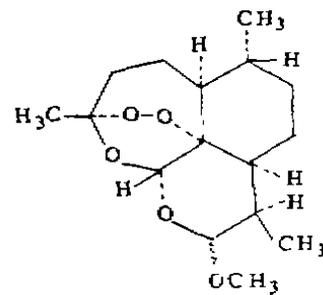
KEY WORDS *Schistosoma japonicum*; larva; artemether

提要 蒿甲醚 ig 治疗小鼠血吸虫病的疗效较 im 为好或相仿。d 7 童虫对蒿甲醚的敏感性较大, d 35 成虫次之, 其余 d 0 (3h) 和 d 3-d 21 的童虫及成虫更次之。d 35 成虫经蒿甲醚作用后, 最早出现的形态变化是 ♂ 虫睾丸和 ♀ 虫卵黄腺及卵巢迅速萎缩退化, 虫体

缩小。在体外, 蒿甲醚在 40 μ g · ml⁻¹ 时对各期童虫和成虫有作用。

关键词 日本血吸虫; 幼虫; 蒿甲醚

蒿甲醚(β -甲基二氢青蒿素)系含过氧桥的新型半倍萜内酯青蒿素的衍生物, 首先由中国科学院上海药物研究所⁽¹⁾合成, 呈无色片状结晶状, 脂溶性比青蒿素大。它不仅具有杀疟原虫的作用⁽²⁾, 而且还有抗日本血吸虫和曼氏血吸虫的作用^(3,4)。本文比较蒿甲醚 ig 与 im 对小鼠日本血吸虫病的疗效, 不同发育期日本血吸虫对蒿甲醚的敏感性, 以及蒿甲醚对体外培养的日本血吸虫的作用等。



Artemether

MATERIALS AND METHODS

虫源 日本血吸虫尾蚴(安徽株)自人工感染的钉螺逸出, 由本所生物媒介研究室提供。

药物 蒿甲醚购自云南昆明制药厂, 纯度为 99%。ig 的蒿甲醚混悬在 5% 淀粉液中, im 的则溶于色拉油中, 作体外培养时溶解于聚乙二醇(PEG: 分子量为 400), 加入等量的亨氏盐平衡溶液(HBSS), 然后再按实验需要, 用 HBSS 作进一步稀释。

动物 取昆明杂交小鼠, ♀ ♂ 兼用, 体重

Received 1991 Apr 2

Accepted 1992 Jan 24

20 ± s 1.1 g, 本所动物室提供. 于试验期间自由摄取饲料和水.

体内试验 小鼠每只感染血吸虫尾蚴 48-52 条, 于感染后 3 h, d 3, 7, 14, 21, 28 和 d 35 ig 或 im 蒿甲醚, 停药后 4 wk 解剖, 根据残留虫数评价疗效. 在观察药物对血吸虫肠系膜静脉移行至肝内(肝移)的作用时, 小鼠感染 d 35 ig 或 im 蒿甲醚, 停药后不同时间剖杀, 用冰冷的生理盐水分别灌注肝脏和肠系膜静脉, 收集血吸虫计数, 若取虫作形态学观察, 则用冰冷的 HBSS 作灌注液, 收集的血吸虫用 70% 乙醇固定, 经酸性 carmine 染色后观察虫的形态和测量虫体, 以及生殖腺的大小. 另外用蒿甲醚 ig 330 mg · kg⁻¹, 100 mg · kg⁻¹ (1/3, 1/10 LD₅₀) 分别与 sc 130 和 39 mg · kg⁻¹ (1/3, 1/10 LD₅₀) 或 im 130 和 39 mg · kg⁻¹ (1/2, 1/7 LD₅₀) 进行比较.

体外试验 培养液为含 20% 小牛血清-RPMI 1640, 内含青霉素、链霉素各 500 IU · ml⁻¹ 和两性霉素 B 0.25 μg · ml⁻¹, 取 Falcon 96 或 24 孔板, 每孔加入培养液 140 μl 或 1.9 ml. 用以培养 3 h-d 3 童虫, 每孔加入童虫悬液 50 μl, 含虫约 50 条, 用以培养 d 14-35 血吸虫, 加至每孔的 d 14 童虫数为 20 条, d 21, 28 和 d 35 每孔含 2 虫各 5 条. 每一药物剂量组测试 3 孔, 将培养板放置在含 5% CO₂ 的 37℃ 箱中, 加药后的不同时间将培养板放置在有保温装置的倒置显微镜上观察虫的形态和活动情况.

RESULTS

不同给药途径对血吸虫的作用

1 肝移 感染 35 d 的小鼠 ig 蒿甲醚后 16 h, 即有部分血吸虫肝移. 3-4 d 后 95-98% 的虫移行至肝内, 若 im 蒿甲醚, 虫的肝移较缓慢, 2 d 后有 88.4% 的虫肝移, 但 3 d 后肝内部分虫重返肠系膜静脉(Tab 1).

2 疗效 感染血吸虫尾蚴达 32 d 的小鼠

Tab 1. Hepatic shift of *Schistosoma japonicum* harbored in mice treated with ig (200 mg · kg⁻¹) or im (100 mg · kg⁻¹) artemether in a 2-d treatment course. $\bar{x} \pm s$.

	n	Time after medication / h	Worms / mouse	Worms %	
				Liver	Mesenteric veins
0	4	-	18.8 ± 5.0	16.0	84.0
ig	3	16	17.7 ± 6.4	36.2	63.8
	8	24	16.9 ± 4.4	55.6	44.4
	4	48	17.8 ± 0.5	86.6	14.0
	4	72	24.8 ± 2.1	98.0	2.0
	4	96	20.0 ± 4.8	95.0	5.0
im	4	16	20.5 ± 6.1	23.4	76.6
	7	24	22.4 ± 4.9	26.8	73.2
	4	48	19.0 ± 5.7	88.4	11.6
	5	72	17.4 ± 4.3	74.7	25.3
	4	96	18.5 ± 4.7	67.6	32.4

用蒿甲醚 ig 330 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ × 2 d 或 sc, im 130 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ × 2 d, 各组的平均虫数明显少于对照组, 其减虫率分别为 70.5, 60.4 和 74.0%, 各给药组间的差别不显著, 若上述途径给药的剂量各为 100 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ × 2 d 和 sc, im 39 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ × 2 d, 则后两种给药途径的虫数与对照组相仿, 而前者则较对照组的明显为少(Tab 2).

Tab 2. Therapeutic effects of artemether in a 2-d treatment course on mice infected with *Schistosoma japonicum* cercariae for 35 d. $\bar{x} \pm s$. *P > 0.05, *P < 0.01 vs control.**

Route	Daily dose / mg · kg ⁻¹	Mice	Worms / mouse
Control	0	19	36.6 ± 8.2
ig	330	18	10.8 ± 4.5***
im	130	20	9.5 ± 5.7**
sc	130	16	14.5 ± 7.7**
ig	100	18	15.7 ± 7.2***
im	39	6	36.2 ± 5.9*
sc	39	6	30.2 ± 8.9*

3 血吸虫形态的变化 小鼠感染血吸虫尾蚴后 35 d, ig 蒿甲醚 200 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 或

im 100 mg · kg⁻¹ · d⁻¹, 连给 2 d 时, 虫的形态变化相似。感染小鼠停药后 1 d, ♂ 虫的睾丸呈轻度萎缩, 局部肠管膨大。♀ 虫的卵巢, 或无明显变化, 或有一些缩小, 特别是 ig 组较为明显。此时子宫腔内一般仍充盈较多的虫卵, 而卵黄腺的退化较明显。停药后 13-14 d, ♂ 虫睾丸的退化萎缩极为明显, 有的模糊不清, 肠管局部膨大亦较多见, 此时 ♀ 虫的卵巢明显退化萎缩, 特别是 ig 组, 有的仅遗留残迹; 卵黄腺的萎缩退化极明显, 结构稀疏, 而子宫腔内的虫卵大都已排空, 或仅充有少量不成形的卵成分, 此外, 尚可查见一 ♀ 虫的局部体表为宿主的组织细胞所包被。药后 28 d, 大部分残留虫皆已恢复正常。

对虫的大小及生殖腺的测量结果表明, 给药后 1 d, ♀, ♂ 虫即见有明显缩小, 并以 ig

组为明显, 停药 14 d 后, 残留的 ♀, ♂ 虫逐渐恢复正常 (Tab 3)。

ig 组与 im 组的 ♂ 虫睾丸于停药后 24 h 明显缩小, 至停药后 7-14 d 时, 其睾丸大小约为正常虫的 1/2。ig 组 ♀ 虫的卵巢于停药后 1 d 为 26 ± 6 μm, 较对照组的明显为小, 而 im 组的不明显。停药 3 d 时, ig 组与 im 组 ♀ 虫卵巢分别为 23 ± 6 μm 和 31 ± 7 μm。14 d 后, 残留 ♀, ♂ 虫的卵巢和睾丸逐渐恢复正常。

不同发育期的血吸虫对蒿甲醚的敏感性
小鼠 ig 蒿甲醚 200 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 和 im 100 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 连给 2 d, 观察不同发育期的日本血吸虫对蒿甲醚的敏感性。结果, ig 和 im 给药途径均对 d 7 童虫最敏感, d 21 童虫组的平均虫数虽与对照组的差别明显, 但减虫率较低, 除 d 35 组外, 余各组的平均虫数均

Tab 3. Sizes of body, testis, and ovary of *Schistosoma japoicum* after treatment of infected mice with artemether ig 200 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ or im 100 mg · kg⁻¹ · d⁻¹. $\bar{x} \pm s$. **P* > 0.05, ***P* < 0.05, ****P* < 0.01 vs control.

Route	Time after treatment / d	Worm sex	Worms examined	Worm body length / μm	Length / μm of Testis	Ovary	
Control		M	10	629 ± 47	13 ± 3		
		F	10	827 ± 70		44 ± 9	
im	1	M	10	539 ± 102*	10 ± 2***		
		F	6	652 ± 165*		43 ± 12*	
	3	M	10	473 ± 85***	8 ± 2**		
		F	10	484 ± 89**		31 ± 7**	
	7	M	10	414 ± 85**	7 ± 2**		
		F	10	426 ± 57**		14 ± 4**	
	14	M	10	500 ± 101**	9 ± 3**		
		F	6	450 ± 100**		17 ± 13***	
	28	M	10	632 ± 92	11 ± 2**		
		F	10	794 ± 104		54 ± 8	
	ig	1	M	9	480 ± 42**	9 ± 1***	
			F	7	435 ± 100***		26 ± 6***
3		M	10	457 ± 28**	8 ± 1***		
		F	2	477 ± 199***		23 ± 6**	
7		M	10	380 ± 41***	7 ± 3**		
		F	2	296 ± 7**		10 ± 0.7**	
14		M	10	456 ± 79**	7 ± 2**		
		F	10	341 ± 98**		16 ± 9**	
28		M	10	724 ± 126	11 ± 3**		
		F	10	829 ± 212		54 ± 13	

明显多于 d 7 童虫组 (Tab 4).

Tab 4. Effects of ig or im artemether in a 2-d treatment course on developmental stages of *Schistosoma japonicum*. $\bar{x} \pm s$. * $P > 0.05$, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$ vs corresponding d 7 group.

Route	Worm, d	Daily dose / mg · kg ⁻¹	Mice	Worm / mouse
Control			30	29.7 ± 7.2
ig	0	200	19	28.9 ± 8.0***
	7		20	8.0 ± 4.8
	14		20	25.8 ± 7.5***
	21		19	21.5 ± 8.0***
	35		9	11.8 ± 3.8*
im	0	100	19	21.4 ± 9.0***
	7		17	2.8 ± 2.7
	14		19	25.6 ± 8.2***
	21		20	23.5 ± 5.8***
	35		8	14.6 ± 8.3***
Control			20	36.4 ± 4.9
ig	7	200	16	7.8 ± 5.2
	14		18	18.3 ± 7.1***
	21		20	24.9 ± 7.1***
	35		19	9.9 ± 4.0*
	im		7	100
14		20	26.3 ± 8.8***	
21		20	22.1 ± 5.5***	
35		17	10.9 ± 5.1**	

体外抗血吸虫作用

1 d 0-d 21 童虫 在含蒿甲醚 40 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的培养液中, 各期童虫均迅速挛缩, 随即不动, 但 15 min 后虫体逐渐松弛, 并有微弱活动。同时除 d 0 和 d 7 童虫外, 其余各期童虫于培养 0.5-2 h 后体表有空泡形成并逐渐增多。d 0、d 3 童虫分别于 24 和 72 h 全部死亡; d 7、d 14 童虫于 48 h 后的死亡率分别为 98% 和 33%, 而 d 21 童虫于 96 h 后仍有微弱活动。药物浓度为 20 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 时, 对各期童虫均无明显影响。

2 d 28 及 d 35 组 血吸虫与蒿甲醚 40 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 接触后约 30 min, 大部分挛缩的♀、♂ 虫的体表有空泡形成, 24 h 后虫的体表均

有大小不等的空泡, 部分已破裂。2-3 d 后, 40% 的虫已不动, 其余虫的活动较弱。药物浓度为 30 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 时挛缩的虫体于 40 min 左右逐渐恢复活动, 部分♀虫的局部体表有空泡形成, 3 d 后♂虫已恢复正常, ♀虫仍短缩, 活动弱。药物浓度为 20 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 对虫无明显影响。

DISCUSSION

在鼠疟的实验治疗中曾观察到蒿甲醚注射的疗效较 ig 为佳⁽²⁾。前文⁽⁴⁾结果亦认为蒿甲醚油剂注射的效果较 ig 的略好。本实验中用蒿甲醚小剂量和短疗程观察表明, 在等毒性比例剂量下, 甚或肌注所用的剂量按毒性大于 ig 所用的剂量时, 无论是从虫的肝移、虫的形态变化和疗效来看, ig 蒿甲醚对血吸虫的作用至少是与 im 的相仿。这可能是疟原虫与血吸虫在宿主体内寄生的部位不同, 以及 im 油剂的吸收较缓慢, 和吸收后的稀释与代谢, 使蒿甲醚难以在血吸虫寄生的门脉系统血液内达到较高的血药浓度, 而且 im 的生物利用度较低仅 37-50%, 从而使蒿甲醚 im 治疗血吸虫病受到一定的影响。

小鼠试验表明, 不同发育期的日本血吸虫对蒿甲醚的敏感性存在着很大的差异, 以 d 7 童虫最敏感, 而曼氏血吸虫则以 d 14 和 d 21 童虫对蒿甲醚最敏感⁽³⁾, 证明不同种的血吸虫对药物的敏感性存在着差异。

蒿甲醚能引起血吸虫多种组织的变化⁽⁵⁾。用整体虫观察表明, 经蒿甲醚作用后, 虫体最易受到药物攻击的部位是生殖腺和肠管, 后者受损可干扰虫的营养、代谢, 而使虫体持续缩小, 另一方面, 仅在受损♀虫卵巢以下部位的体表, 查见宿主细胞的附着, 而皮层未见有明显损害, 这与吡喹酮抗血吸虫的作用有所不同。

根据体外试验结果难以阐明体内不同发育期的血吸虫对蒿甲醚敏感性的差异, 故推测用

蒿甲醚治疗时, 除原药外, 其代谢物可能在杀虫过程中起重要作用, 值得研究.

REFERENCES

1 Li Y, Yu PL, Chen YX, Li LQ, Gai YZ, Wang DS, *et al.* Synthesis of some derivatives of artemisinin. *Kexue Tongbao* 1979; 24 : 667-9.

2 Gu HM, Liu MZ, Lu BF, Xu JY, Chen LJ, Wang MY, *et al.* Antimalarial effect and toxicity of methyl-dihydroartemisinin in animals. *Acta Pharmacol Sin* 1981; 2 : 138-44.

3 Xiao SH, Catto BA. *In vitro* and *in vivo* studies on the effect of artemether on *Schistosoma mansoni*. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33 : 1557-62.

4 Le WJ, You JQ, Yang YQ, Mei JY, Gou HF, Yang HZ, *et al.* Studies on the efficacy of artemether in experimental schistosomiasis. *Acta Pharm Sin* 1982; 17 : 187-93.

5 Wu LJ, Yang HZ, Yang YQ. Histological and histochemical changes of *Schistosoma japonicum* and host liver caused by artemether. *Acta Pharm Sin* 1983; 18 : 7-14.

BIBLID: ISSN 0253-9756 中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1992 May; 13 (3) : 284-288

284-288

葛根素在大鼠、家兔、犬中的药物动力学

金普陆¹, 朱秀媛 (中国医学科学院药物研究所, 北京 100050, 中国) R969.1 R282.710.5

Pharmacokinetics of puerarin in rats, rabbits, and dogs

JIN Xi-Lu¹, ZHU Xiu-Yuan (Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050, China)

ABSTRACT The puerarin was determined by HPLC with fluorescence detection. The plasma concentration-time course of puerarin in rats and dogs after iv was best fitted to a two-compartment open model, while that in rabbits was best fitted to a three-compartment open model. Species specificity was found among rats, rabbits, and dogs, calculated with compartment model program. The $T_{1/2\beta}$ after iv puerarin $9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ in rats, rabbits, and dogs were 11, 21, and 67 min, respectively. There were no significant differences in pharmacokinetic parameters after iv $4.5-30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ to rabbits and dogs.

KEY WORDS puerarin; pharmacokinetics; species specificity; high pressure liquid chromatography

提要 本文用反相高压液相色谱荧光检测法研究了葛根素在大鼠、家兔、狗体内的药物动力学. 结果表明: 葛根素在大鼠、狗体内的药时过程符合开放二房室模型, 在家兔体内的药时过程符合开放三房室模型. 房室模型程序及统计矩程序计算结果均表明, 葛根素在三种动物中的药物动力学过程存在着种特异性.

关键词 葛根素; 药物动力学; 种特异性; 高压液相色谱

鼠, 兔, 犬, 野葛

葛根素(puerarin, Pue)是野葛 [*Pueraria lobata* (Willd) Ohwi]根的主要有效成分之一⁽¹⁾. Pue的药理和临床应用已有不少资料⁽²⁻⁹⁾. 本实验室曾用薄层uv分光光度法及薄层荧光分光光度法研究了Pue在大鼠体内的代谢及药物动力学^(10,11). 为阐明Pue在大动物中的代谢规律及完善其药物动力学资料, 我们采用高压液相色谱(HPLC)法, 研究了Pue在大鼠、家兔及狗的动物药理学.

Received 1990 Sep 25 Accepted 1992 Jan 4

¹ Now in Department of Pharmacology, Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, China.