

## 七种抗疟药对小鼠感染抗咯萘啶伯氏鼠疟原虫的实验治疗

陈克涌 林宝英 张家坝 邵葆若 (中国医学科学院寄生虫病研究所, 上海 200025)

**提要** 用7种红细胞内期裂殖体杀灭药分别对感染伯氏鼠疟原虫(简称 P.b)和其抗咯萘啶原虫(简称 RP)的小鼠进行实验治疗的结果表明, RP原虫对氯喹、喹哌、奎宁和阿的平有交叉抗性, 但对乙胺嘧啶与周效磺胺敏感。用 Finney's 法计算, 周效磺胺  $ED_{50}$  为  $0.67 \text{ mg/kg/d} \times 3$ , 乙胺嘧啶为  $52.2 \text{ mg/kg/d} \times 3$ , 青蒿素在大剂量时, 对 RP原虫也有效, 其  $ED_{50}$  为 1034

$\text{mg/kg/d} \times 3$ 。此外, 乙胺嘧啶与周效磺胺配伍对 RP原虫有增效作用。

**关键词** 伯氏疟原虫; 血液裂殖体杀灭剂; 咯萘啶; 青蒿素; 交叉抗药性; 药物协同作用

咯萘啶, 2-甲氧基-7-氯 10-(3', 5'-双四氢吡咯-1-次甲基-4'-羟苯基)氨基苯骈[1,5]-萘啶, 是我所 1970 年合成的一种抗疟新药, 它

1982年8月2日收稿 1983年2月10日修回

对抗氯喹恶性疟有显著疗效<sup>(1)</sup>。最近的研究结果表明,咯萘啶对伯氏疟原虫可较快地诱发抗性<sup>(2)</sup>。在长期和大规模现场使用中,恶性疟原虫对它可能产生抗性是应预先考虑的问题。为此,试用了7种抗疟药对抗咯萘啶原虫感染的小鼠进行了疗效观察。

## 材 料 和 方 法

实验动物为昆明近交系小白鼠,体重 $20 \pm 2$  g, ♀ ♂ 均用。伯氏疟原虫(*P. berghei*)于1954年从印度加尔各答热带医学研究所引进,经血液转种保种到现在。抗咯萘啶伯氏疟原虫(RP)是由上述鼠疟培育出来的,其抗性倍数 $>300$ 。磷酸氯喹,市售,批号800824,盐基含量为62.6%;盐酸奎宁,市售,批号800127/37,盐基含重为81.72%;青蒿素由云南省药物研究所提供;磷酸咯萘啶盐基含量为57%,盐酸阿的平的盐基含量为78.5%;这两种药品和喹哌、周效磺胺及乙胺嘧啶均由本所药物化学研究室提供。

实验时,每组5鼠,每鼠ip感染*p.b*的红细胞 $5 \times 10^6$ 个,接种当天为d0。待小鼠红细胞平均原虫感染率达到2%以上时,开始给药,按盐基含量,用1%西黄耆胶配制,每鼠20 ml/kg ig, qd  $\times 3$  或 4 d。停药24 h,尾尖取血作薄血膜,甲醇固定,吉氏液染色。如镜检3万个红细胞仍未查见原虫,即为原虫转阴;如在耐受剂量范围内,药物能使半数以上的感染鼠转阴则为初步有效。初步有效的药作进一步测试,每药设6-8个剂量组,每组10鼠,疗程3 d,定期查血,了解原虫消长情况并根据停药后24 h的结果,用Finney's法计算出各药对感染*P.b*及RP原虫小鼠的ED<sub>50</sub>,并计算出抗性指数I<sub>50</sub>(I<sub>50</sub> = RP的ED<sub>50</sub>/*P.b*的ED<sub>50</sub>)。经试验确定对RP原虫感染小鼠的有效药物后,参照张效文<sup>(3)</sup>等研究锑剂和砷剂合并应用的毒性时的剂量设计,用某药ED<sub>50</sub>的1/4, 1/2及3/4量分别与另一有效药物的5个不同剂量组进行配伍试验,最后用图解法分析结果。

## 结 果

**对伯氏疟原虫和抗咯萘啶原虫感染小鼠的治疗** 药物治疗后,根据感染小鼠的转阴率,用Finney's法计算,周效磺胺对感染伯氏疟原虫小鼠的ED<sub>50</sub>为1.25 mg/kg/d  $\times 3$ ,其95%可信限为0.88-1.78 mg/kg/d  $\times 3$ ;咯萘啶为1.80 mg/kg/d  $\times 3$ ,95%可信限为1.58-2.06 mg/kg/d  $\times 3$ ;氯喹为5.1 mg/kg/d  $\times 3$ ,95%可信限为3.9-6.7 mg/kg/d  $\times 3$ ;阿的平为8.7 mg/kg/d  $\times 3$ ,95%可信限为7.3-10.5 mg/kg/d  $\times 3$ ;喹哌为9.3 mg/kg/d  $\times 3$ ,95%可信限为7.8-11.1 mg/kg/d  $\times 3$ ;青蒿素为113 mg/kg/d  $\times 3$ ,95%可信限为93-137 mg/kg/d  $\times 3$ 。当乙胺嘧啶的剂量增加至97.5 mg/kg/d  $\times 3$ 、奎宁的剂量增加至480 mg/kg/d  $\times 3$ 时,小鼠出现中毒死亡而只有个别感染小鼠的原虫血症转阴,估计这两药的ED<sub>50</sub>分别 $>97.5$  mg/kg/d  $\times 3$ 和 $>480$  mg/kg/d  $\times 3$ 。

周效磺胺对感染RP原虫小鼠的ED<sub>50</sub>为0.67 mg/kg/d  $\times 3$ ,其95%可信限为0.53-0.84 mg/kg/d  $\times 3$ ;乙胺嘧啶为52.2 mg/kg/d  $\times 3$ ,95%可信限为41.6-65.4 mg/kg/d  $\times 3$ ;青蒿素为1034 mg/kg/d  $\times 3$ ,95%可信限为843-1268 mg/kg/d  $\times 3$ 。

根据*P.b*和RP原虫感染小鼠的ED<sub>50</sub>,求得抗性指数I<sub>50</sub>。青蒿素为9.2,周效磺胺为0.5,乙胺嘧啶的I<sub>50</sub>估计为 $<0.54$ (表1)。

**药物对小鼠感染RP原虫率和红细胞感染率的影响** 取接近各药ED<sub>50</sub>的剂量,乙胺嘧啶54.84 mg/kg/d  $\times 3$ ,周效磺胺0.67 mg/kg/d  $\times 3$ 及青蒿素1400 mg/kg/d  $\times 3$ ,给感染RP原虫小鼠治疗3 d,进行观察,获得每组鼠的平均红细胞感染率(表2)及小鼠感染率的消长曲线(图1)。乙胺嘧啶给药后,d6-7的红细胞感染率降至最低,为0.06-0.01%,周效磺胺给药后d7-10的红细胞感染率降至最低,为0.001-0.07%;青蒿素于d7-10的红细胞感染率也降至最低,小于0.001%,d8-9时未查见原虫,

Tab 1. Resistant indices ( $I_{50}$ ) of drugs given ig for 3 d in mice infected with parent line (*P.b*) or pyronaridine-resistant line (RP) of *Plasmodium berghei*, calculated at 24 h (but 48 h for sulfadoxine) after the last ig.

Drug	ED <sub>50</sub> (mg/kg/d × 3 d)		
	<i>P.b</i>	RP	$I_{50}$
Pyrimethamine	>97.5	52.2	<0.54
Sulfadoxine	1.25	0.67	0.5
Artemisinin	113	1034	9.2

小鼠感染率的变化,以乙胺嘧啶组下降得最快, d 6 开始明显下降, d 7 降至 44% (4/9), 此后不再下降, d 10 开始回升, d 11 回升到 62% (5/8). 周效磺胺组的小鼠感染率于 d 7 才开始明显下降, d 8 降至 10% (1/10), d 11 回升到 40% (4/10). 青蒿素组的小鼠感染率下降得最明显, d 8-9 降为 0, 但于 d 11 又迅速回升(8/9).

**药物配伍对感染抗咯萘啶伯氏疟原虫小鼠的疗效** 青蒿素 500 mg/kg/d × 3 单独使用的效果与周效磺胺 0.26 mg/kg/d × 3 或 0.32 mg/kg/d × 3 配伍的效果没有明显差别, 各组受治 10 只小鼠中的阴转数均为 3; 青蒿素 514.5 mg/kg/d × 3 配伍乙胺嘧啶 28 mg/kg/d × 3, 受治 10 只小鼠中的阴转数由单独用药时的 1 与 3 稍增至 6; 而周效磺胺 0.26 mg/kg/d × 3 配伍乙胺嘧啶 19.6 mg/kg/d × 3, 所治 10 只小鼠中的阴转数由单独用药时的 1 与 0 增至 9(表 3).

Tab 2. Therapeutic effect of drugs given ig for 3 d on pyronaridine-resistant line of *P. berghei*. Medication was started on d 4.

Drug	Daily dose (mg/kg)	Average % of infected erythrocytes (Number of mice with positive parasitaemia/Number of mice treated)									
		d 4	d 5	d 6	d 7	d 8	d 9	d 10	d 11	d 13	d 15
Pyrimethamine	34.84	3.42 (9/9)	0.60 (9/9)	0.06 (5/9)	0.01 (4/9)	0.19 (4/9)	0.95 (4/9)	1.65 (5/9)	2.52 (5/8)	4.62 (5/8)	6.08 (5/8)
Sulfadoxine	0.67	1.76 (10/10)	2.66 (10/10)	0.21 (9/10)	<0.001 (4/10)	<0.001 (1/10)	0.02 (1/10)	0.07 (1/10)	0.39 (4/10)	1.08 (6/10)	4.07 (6/10)
Artemisinin	1400	1.69 (10/10)	1.04 (10/10)	0.32 (8/9)	<0.001 (1/9)	0 (0/9)	0 (0/9)	<0.001 (1/9)	0.19 (8/9)	2.22 (9/9)	4.92 (9/9)

3), 1/2 (0.34 mg/kg/d × 3) 及 3/4 (0.51 mg/kg/d × 3) 量与 5 个不同剂量的乙胺嘧啶配伍, 用直线回归法得出乙胺嘧啶的 ED<sub>50</sub> 分别为 7.08 mg/kg/d × 3, 0.82 mg/kg/d × 3 及 0.27 mg/kg/d × 3. 参照等作用点连接线的图解分析法<sup>(3)</sup>, 上述乙胺嘧啶 ED<sub>50</sub> 的三个点, A, B, C 三点全部落在周效磺胺的 ED<sub>50</sub> 与乙胺嘧啶 ED<sub>50</sub> 的 95% 可信限连接线的内下方(图 2), 因而可以认为两药间有显著增效作用.

## 讨 论

实验表明, 对 RP 原虫有效的药物为乙胺嘧啶、周效磺胺和青蒿素, 三者对 RP 原虫的疗效各有特点, 用上述 3 种药接近 ED<sub>50</sub> 的剂量给感染小鼠治疗时, 乙胺嘧啶对 RP 的  $I_{50}$  较小, 作用迅速, 可以认为乙胺嘧啶是对血内 RP 原虫杀灭作用较敏感而快的药物, 周效磺胺的 ED<sub>50</sub> 剂量最小, 小鼠感染率回升的时间迟, 回升的水平低, 但它对 RP 原虫的杀灭作用缓慢. 可以认为, 周效磺胺是对 RP 原虫疗效好, 用药量少, 疗效维持时间较长但作用较迟缓的药物. RP 原虫对青蒿素的疗效不如 *P.b* 敏感, 它的 ED<sub>50</sub> 及  $I_{50}$  较乙胺嘧啶、周效磺胺的大, 但接近该药 ED<sub>50</sub> 的剂量对 RP 原虫作用相当迅速, 短期内即可使小鼠感染率及红细胞感染率下降至 0. 可以认为, 青蒿素是一种速效和近期疗效好的抗 RP 药, 但其用药量大, 治疗后容易复燃. 此外, 实验结果表明乙胺嘧啶与周效磺胺配伍对 RP 原虫有增效作用, 鉴于药物

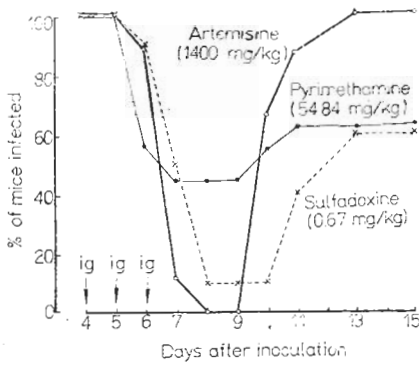


Fig 1. Curves of pyronaridine-resistant *P. berghei* injection rate of mice treated with artemisinin, pyrimethamine and sulfadoxine

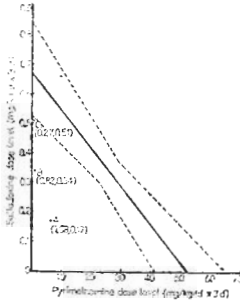


Fig 2. Potentiation of pyrimethamine and sulfadoxine against pyronaridine-resistant *P. berghei* shown by the joined line of  $ED_{50}$  and its 95% confidence limits. ●  $ED_{50}$  of pyrimethamine in combination with various doses of sulfadoxine.

*Acta Pharmacologica Sinica* 1983 Dec; 4 (4) : 269-273

## EXPERIMENTAL THERAPY OF 7 ANTIMALARIALS IN MICE INFECTED WITH PYRONARIDINE-RESISTANT *PLASMODIUM BERGHEI*

CHEN Ke-yong, LIN Bao-ying, ZHANG Jia-xun, SHAO Bao-ruo

(Institute of Parasitic Diseases, Chinese Academy of Medical Sciences, Shanghai 200025)

**ABSTRACT** Seven antimalarials were used in treating mice infected with *plasmodium berghei* or pyronaridine-resistant (RP) line of *p. berghei*. The result showed that RP line was cross-resistant to chloroquine, piperazine, quinine and quinacrine but susceptible to pyrimethamine and sulfadoxine. The  $ED_{50}$  of pyrimethamine

Table 3. Effect of pyrimethamine in combination with sulfadoxine for 3 d. (Number of mice with negative parasitaemia/Number of mice treated)

Sulfadoxine (mg/kg/d)	Pyrimethamine (mg/kg/d)		
	0	19.6	28.0
0	0/10	0/10	1/10
0.25	1/10	9/10	9/10
0.32	1/10	10/10	10/10

的配伍也是避免原虫产生抗性的一项有效方法<sup>(4)</sup>, 因此值得进一步研究。

RP 伯氏鼠疟原虫对氯喹与阿的平等药有交叉抗性, 但抗氯喹株伯氏鼠疟原虫却对咯萘啶无交叉抗性, 这是需要进一步研究的问题。

本研究得到联合国开发计划署/世界银行/世界卫生组织热带病研究培训特别规划的部分支持。

### 参 考 文 献

- 1 郑贤育、夏毅、高芳华、郭惠珠、陈昌. 药学报 1979年12月; 14 (12):736
- 2 邵葆若、叶秀玉、郑浩. 同上 1982年8月; 17(8):566
- 3 张效文、沈道修、郭寿延. 同上 1964年6月; 11 (6):371
- 4 Knight DJ, Peters W. *Ann Trop Med Parasitol* 1980 Aug; 74(4):403

and sulfadoxine were 52.2 and 0.67 mg/kg/d  $\times$  3, respectively. Artemisinin was effective to RP line at a higher dosage, and its  $ED_{50}$  was 1034 mg/kg/d  $\times$  3. pyrimethamine in combination with sulfadoxine resulted in a potentiating effect against pyronaridine-resistant line of *p. berghei*.

**KEY WORDS** *Plasmodium berghei*; blood  
schizontocides; pyronaridine; artemisininine;  
cross resistance; drug synergism

This investigation received partial support from  
the UNDP/World Bank/WHO Special Program  
for Research and Training in Tropical Diseases.

\*

\*

\*

\*

\*

\*