

# 抗咯萘啶伯氏疟原虫抗药性的稳定性

邵葆若 叶秀玉 郑浩 (中国预防医学中心寄生虫病研究所\*, 上海 200025)

**提要** 抗咯萘啶伯氏疟原虫(RP系)自35代(抗性>299)起每次转种后3d给小鼠ig咯萘啶600mg(盐基)/kg。加药转种114代,再停药转种21-51代,RP系原虫的抗性仅略有下降。若加药转种134代,原虫的抗性便趋稳定,停药转种31代后测定原虫对咯萘啶的抗性未见下降,且仍保持对氯喹的交叉抗药性。

**关键词** 抗疟药; 咯萘啶; 伯氏疟原虫; 抗药性

本世纪七十年代东南亚地区疟疾大幅度上升的原因之一,据世界卫生组织的分析,是疟原虫对氯喹和Fansidar(周效磺胺与乙胺嘧啶合剂)产生了抗性<sup>(1)</sup>。我国创制的新抗疟药咯萘啶治疗抗氯喹恶性疟有特效<sup>(2)</sup>。但它本身对疟原虫也容易引起抗性,而且一旦产生抗性后与氯喹有交叉抗药性。如果在原虫产生抗性初期,转种传代时停止用药,抗性可很快消失<sup>(3)</sup>。本实验目的在了解抗咯萘啶系伯氏疟原虫每次血传转种同时给咯萘啶,经较长时间后,其抗药性程度的变化。

## 材料与方法

磷酸咯萘啶为本所药物化学研究室创制,

1984年3月5日收稿 1984年5月5日修回

\* 世界卫生组织疟疾、血吸虫病、丝虫病合作中心。本项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。

含盐基57%,溶于水后按盐基量给药。小鼠为本所动物室繁殖的昆明系杂种鼠,体重18-22g。

抗咯萘啶系伯氏疟原虫(*Plasmodium berghei* pyronaridine-resistant line,简称RP系)是用1954年从印度引进的*P. berghei*亲代系培育获得,抗性>299<sup>(3)</sup>。RP系自第35代起,每周血液转种后3d给小鼠ig咯萘啶600mg/kg一次。及至第114代和134代,每次转种不再给药,分别转种51及31代。停药转种期间,每5代测定一次抗性程度。

抗性的测定基本上按常用的方法<sup>(3)</sup>。每鼠ip感染*P. berghei*的RBC  $5 \times 10^8$ ,3d后,每5鼠为一组,分别ig 8, 120, 600及1200mg/kg的咯萘啶一剂(d0)。d3起血检,记录每千个RBC的原虫感染率(EIR)。以50个油镜视野(约 $2.5 \times 10^4$ RBC)未查见原虫为阴性。

## 结果

第114代RP系停药转种11代时,对咯萘啶仍具高度抗性(表1);至第21代起ig咯萘啶8-1200mg/kg可使部分鼠的原虫血症转阴,但d10即复燃。停药转种第26代起,小鼠ig 600与1200mg/kg后,原虫血症转阴后的复燃时间略有延长,原虫复燃鼠的EIR值均较

Tab 1. Stability of drug resistance of RP line Passage 114 (Parasitemia mice/mice examined)

Passages without Pyronaridine pressure	Oral dose of pyronaridine (mg base/kg)															Drug resist- ance					
	8					120					600						1200				
	d0	d3	d4	d10	d15	d0	d3	d4	d10	d15	d0	d3	d4	d10	d15		d0	d3	d4	d10	d15
6	4/5	5/5	4/4			4/5	5/5	5/5			5/5	5/5	5/5			5/5	4/4	3/3			+++
11	5/5	5/5				5/5	5/5				5/5	5/5				4/4	4/4				+++
15*																5/5	5/5	5/5			+++
21	5/5	0/5	0/5	3/3							5/5	0/5	0/5	4/4		5/5	0/5	0/4	4/4		++
26	5/5	1/5	2/4	4/4		5/5	0/5	3/5	3/5	2/5	5/5	0/5	0/5	0/3	2/3	4/4	0/4	0/4	0/3		++
31	5/5	2/5	5/5	5/5	4/4	5/5	0/5	0/5	2/2	1/1	5/5	0/5	0/5	1/5	0/2	5/5	0/5	0/5	0/2		++
36	5/5	2/5	3/5	5/5	4/5	4/4	1/4	1/4	2/3	3/3	5/5	0/4	0/4	1/4	2/4	5/5	1/5	0/5	2/4	2/4	++
41	5/5	0/5	2/5	4/4		5/5	0/5	0/5	4/5		5/5	0/5	0/5	2/5		5/5	0/3	0/3	2/2		++
51	5/5	0/5		5/5		5/5	0/4		2/4	3/4	5/5	0/5		2/5	2/4	5/5	0/5		0/5	1/3	++

d0 = day of medication. \*Gametocytes appeared in all mice 6 d after inoculation of RP line.

Tab 2. Stability of drug resistance of RP line Passage 134 (parasitemia mice/mice examined)

Passage without Pyronaridine pressure	Oral dose of pyronaridine (mg base/kg)															Drug resist- ance										
	0					8					120						600					1200				
	d0	d3	d4	d10	d15	d0	d3	d4	d10	d15	d0	d3	d4	d10	d15		d0	d3	d4	d10	d15	d0	d3	d4	d10	d15
6	5/5	5/5	5/5	2/2		5/5	5/5	5/5	4/4		5/5	5/5	5/5	4/4		5/5	5/5	5/5	5/5		5/5	4/4	4/4	2/2		+++
11	5/5	5/5	5/5	4/4		5/5	5/5	5/5	1/1		5/5	5/5	5/5	2/2		5/5	5/5	5/5	3/3		5/5	2/2	2/2			+++
16	5/5	5/5	5/5	5/5		5/5	5/5	5/5	2/2		4/5	5/5	4/4	3/3		5/5	5/5	5/5	4/4		5/5	5/5	5/5	5/5		+++
21*	5/5	5/5	5/5			5/5	5/5	5/5			5/5	5/5	5/5			5/5	5/5	5/5			5/5	5/5	5/5			+++
26	4/5	5/5	5/5			5/5	5/5	5/5			5/5	5/5	5/5			5/5	5/5	5/5			4/4	1/1	1/1			+++
31	5/5	5/5				5/5	5/5				4/5	5/5				3/4	4/4				5/5	4/4				+++

\* Gametocytes were found in 1 mouse 7 d after inoculation of RP line.

低。但停药前后第 51 代, ig 咯萘啶 1200 mg/kg 的小鼠, 原虫血症转阴后仍复燃, ig 氯喹 400 mg/kg 的 4 鼠, 1 只鼠原虫血症转阴, 3 只鼠的 EIR 虽低于不给药对照鼠, 但 d 10 的原虫密度已回升。

第 134 代 RP 系经停药转种的原虫, 其抗性测定结果见表 2。停药转种 31 代, ig 咯萘啶 120, 600 及 1200 mg/kg 后 3 d 的 EIR 依次为 57, 40 及 30%, 不给药对照组为 33%。停药转种 31 代的原虫接种小鼠并 ig 氯喹 400 mg/kg 后, 原虫血症均不转阴, EIR 也与对照组的相仿。

感染亲代 *P. berghei* 的 5 只小鼠 ig 咯萘啶 8 mg/kg (约为 ED<sub>50</sub> 的 1.2 倍) 后, d 3 仅查见个别早期滋养体, d 4 检查的 4 鼠, 原虫全呈阴

性, d 15 则全部复燃, d 20 尚存留 1 只阳性鼠。ig 120, 600 与 1200 mg/kg 的鼠原虫血症自 d 3 起均转阴, d 50 存活的小鼠未见原虫复燃。

RP 系的亲代原虫已在实验室血传保种 30 年, 并早已丧失产生配子体的能力。而 RP 114 代停药转种第 15 代的 5 鼠, 接种原虫后 d 6 血中均查见♀、♂配子体, 次日 ig 咯萘啶 1200 mg/kg, 原虫密度下降但原虫血症未转阴。此外, RP 系第 134 代停药转种至第 21 代的小鼠, 于接种原虫后 4 d 也有 1 鼠查见♀、♂配子体。

## 讨 论

恶性疟原虫对常用抗疟药产生抗性后, 严重地阻碍了一些地区对疟疾的控制。因此, 强

调研究新抗疟药的抗性,以延长新药在临床使用的年限<sup>(4)</sup>。

*P. berghei* 对咯萘啶产生抗性的初期,即使抗性>299倍,如连续停药转种5代,其抗性即完全消失<sup>(3)</sup>。当RP系加药转种134代,疟原虫的抗性已相对稳定,且保持了对氯喹的交叉抗性。鉴于抗氯喹的伯氏疟原虫<sup>(6)</sup>和抗甲氟喹的约氏疟原虫<sup>(6)</sup>经过蚊传后其抗性并不丢失,推测RP系伯氏疟原虫也有可能通过蚊媒而扩散抗药性原虫。所以,咯萘啶当前只应用于治疗抗氯喹的恶性疟患者。在未研究得出合并用药以延缓抗药性出现的给药方案前,应用咯萘啶的地区应采取交替使用其他抗疟药的原则,同时进行抗药性的监测。

本实验RP系原虫的亲代伯氏疟原虫已无产生配子体能力。但当RP系长期受咯萘啶攻击然后停药传代,能出现♀、♂配子体,而此时的滋养体对咯萘啶仍有抗性。RP系疟原虫

经蚊传后的生物学特性尚待研究。

## 参 考 文 献

- 1 Wernsdorfer W H. Urgent efforts needed to combat drug-resistant malaria. *WHO Chronicle* 1983; 37: 13
- 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. *药学报* 1980; 15: 630
- 3 邵葆若、叶秀玉、郑浩. 伯氏鼠疟原虫(*Plasmodium berghei*)对咯萘啶抗药性的研究. *药学报* 1982; 17: 566
- 4 UNDP/World Bank/WHO TDR 5th Annual Report. *Int J Parasitol* 1982; 12: 375
- 5 Peters W. The Chemotherapy of Rodent Malaria, X Dynamics of Drug Resistance, part 2: Acquisition and Loss of Chloroquine Resistance in *Plasmodium berghei* by Continuous Bioassay. *Ann Trop Med Parasitol* 1970; 64: 25
- 6 Merkli B & Richle R. Experimentally Derived, Stable Mefloquine Resistance in *Plasmodium yoelii nigeriensis*. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1983; 77: 141

*Acta Pharmacologica Sinica* 1985 Sep; 6 (3): 183-185

## STABILITY OF DRUG RESISTANCE OF PYRONARIDINE-RESISTANT LINE OF *PLASMODIUM BERGHEI*

SHAO Bao-ruo, YE Xiu-yu, ZHENG Hao

(Inst Parasitic Diseases\*, China National Centre for Preventive Medicine, Shanghai 200025)

**ABSTRACT** Pyronaridine-resistant line (RP line, passage 35, resistance>299 fold) of *Plasmodium berghei* was successively passed through mice under drug pressure of 600 mg (base)/kg of pyronaridine. When the drug pressure was lifted for 5 passages from Passage 49, the parasites completely lost their resistance to pyronaridine. The drug resistance of RP line

dropped slightly when the parasites of Passage 115 were subjected to 21-51 serial passages in the absence of drug pressure. Pyronaridine-resistance was stable in Passage 134, as no decrease of resistance was detected in the parasites following 31 passages without drug pressure. The parasites under drug pressure for a long period retained not only the high resistance to pyronaridine but also cross resistance to chloroquine.

\* WHO Collaborating Center for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis. Partial financial support was received from UNDP/World Bank/WHO TDR

**KEY WORDS** antimalarials; pyronaridine; *Plasmodium berghei*; drug resistance