

双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片抗猪蛔虫的药理效应

熊玉卿 周宪民 傅 军 况荣华² 刘立生² 严 涛¹ 彭卫东¹ (南昌 330006 江西医学院临床药理研究所; ¹ 寄生虫教研室; ² 新药研究室)

摘要 目的: 研究双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片抗猪蛔虫的药理效应。方法: 将双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片、普通片与阿苯哒唑等抗寄生虫药对小猪人工感染蛔虫病模型进行治疗, 采用改良加藤氏厚涂片法比较上述各药治疗前后的 EPG (克粪便虫卵数) 和虫卵阴转率。结果: 双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片与片剂一样在肠虫营养液中, 显著引起蛔虫虫体僵硬, 导致猪蛔虫头颈段活动停止。双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片 $8\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $10\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组对小猪感染蛔虫均具有非常显著的驱治效果, 治疗后虫卵阴转率达 97.26% 和 100% (88h)、97.51% 和 100% (186h), 与阴性对照组比较有显著性差异; $10\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组虫卵阴转率及 EPG 显著高于阿苯哒唑 (肠虫清) 对照组, $P < 0.05$ 。急性毒性试验结果表明小鼠腹腔注射试验药混悬液 LD_{50} 为 $127.74 \sim 167.86\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 小鼠累积灌胃给予该药的最小致死量大于 $8\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。结论: 双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片对小猪蛔虫感染具有显著的驱治效应。

关键词 双羟萘酸噻嘧啶; 咀嚼片; 药效学; 猪蛔虫

The pharmacodynamics of pyrantel pamoate chewing tablet to pig ascarid

Xiong Yu-Qing, Zhou Xian-Ming, Fu Jun, Kuang Rong-Hua (Institute of clinical pharmacology of Jiangxi medical college, Nanchang, 330006)

ABSTRACT: OBJECTIVE: To study the pharmacodynamics of pyrantel pamoate chewing tablet in treatment of piglet infected ascarid artificially. **METHODS:** The Kato-Kats method was used to report the piglet's EPG and ratio of ovum reduction.

RESULTS: the drug can stiffen the ascarid body hatched in nutrition liquid. The ratio of ovum reduction is 97.26% and 100% (88h), 97.51% and 100% (186h). The ratio of ovum reduction for 88h and EPG is higher than Albendazole group ($P < 0.05$). Acute toxicity study shows LD_{50} of the preparation is $127.74 \sim 167.86\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (i.p., 95% reliability) in mice; the minimum death dose in mice is more than $8\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (i.g., 4 times per day accumulated). **CONCLUSIONS:** Pyrantel pamoate chewing tablet have a significant therapy effect on infected piglet.

KEY WORDS Pyrantel pamoate, chewing tablet, pig ascarid, pharmacodynamics

土源性肠道蠕虫 (蛔虫等) 感染在我国是一个长期存在的严重的公共卫生问题^[1]。广谱抗寄生虫药双羟萘酸噻嘧啶是对蛔虫、钩虫、蛲虫等肠蠕虫均有高度活性, 在美国、日本等国家双羟萘酸噻嘧啶的混悬剂、片剂等临床沿用至今,

具有确切的抗虫效果。在我国肠道寄生虫群防群治工作中, 突出暴露了多数少儿, 尤其是低龄儿童对本品普通片存在的畏药、恐药或拒药的心理, 不适宜用于大规模中小学生的群体治疗。本文对新药研究室研制的外型美观、口感良好的双

羟萘酸噻嘧啶咀嚼片进行了体外和在体的抗猪蛔虫试验研究,同时考察毒性,为其广泛的临床应用提供药理学依据,兹将实验结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 药品

1.1.1 双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片由江西医学院新药研究室提供,每片含双羟萘酸噻嘧啶 0.104g。用 0.7% 二甲亚砜 15ml 加咀嚼片研成的粉末振摇制成混悬液,再稀释至试验所需浓度。灌胃药液用 0.5% 羧甲基纤维素钠助溶,制得最大浓度为 $100\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混悬液备用。腹腔注射的药液则配成 $8.50\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的最大浓度备用。

1.1.2 肠虫营养液:取氯化钠 8.0g,氯化钾 0.2g,无水氯化钙 0.2g,磷酸二氢钠 0.05g,硫酸镁 0.1g,加蒸馏水至 1000ml 备用。

1.1.3 双羟萘酸噻嘧啶片:江西制药厂,批号:9000226-24, $300\text{mg} \cdot \text{片}^{-1}$ 。

1.1.4 阿苯达唑片:中美天津史克制药有限公司,批号:96030160, $200\text{mg} \cdot \text{片}^{-1}$ 。

1.1.5 左旋咪唑片:安徽省金椒制药厂,批号:950802, $25\text{mg} \cdot \text{片}^{-1}$ 。

1.2 动物

1.2.1 新屠宰的猪肠内雌性蛔虫,置于保温 $35 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 的肠虫营养液中备用。

1.2.2 杜长大三元杂瘦肉型商品猪 60~75d 断乳幼猪,由江西省农业科学院畜牧兽医研究所提供。

1.2.3 昆明种小鼠,体重 $20 \pm 1.5\text{g}$,雌雄各半,由江西医学院实验动物中心提供,动物质量合格,证号:021-9602。

1.3 试验方法

1.3.1 双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片对整体猪蛔虫活动的影响 取蛔虫成虫 160 条,分 4 组,每组 40 条,将盛有 2000ml 肠虫营养液的小方盘置于 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 恒温箱中,每盘放入蛔虫 5 条。双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片分高、中、低三个剂量组,将配制的试验药混悬液加入每盘的肠虫营养液中,使终浓度分别为 2×10^{-4} 、 10^{-4} 、 $2 \times 10^{-5}\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,用双羟萘酸噻嘧啶片作阳性对照,其含量为 $10^{-4}\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,阴性对照组给予等量的 0.7% 二甲亚砜溶液,加药后于 5min、10min、15min、30min、1h、2h、4h、6h 分别观察记录蛔虫活动情况,6h 后弃去药液,换入新鲜肠虫营养液,于换液后 2h、4h、12h 观察蛔虫存活情况,若于换液 12h 后蛔虫由僵硬转为瘫软状态、虫体失去光泽者作为死亡计数。

1.3.2 双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片对猪蛔虫头颈段活动的影响

取雌性蛔虫 150 条,分 5 组,每组 30 条,各虫分别用蛙心夹夹住口唇,在唇下 2.0~2.5cm 处结扎,结扎以下多余虫体剪去,虫段固定于盛肠虫营养液 20ml 的麦氏浴槽内,温度保持 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$,将夹住口唇的蛙心夹用丝线连接于张力换能器上,保持 0.5g 张力,在营养液中稳定 10min,描记一段正常活动曲线后,按终浓度为 2×10^{-4} 、 10^{-4} 、 $2 \times 10^{-5}\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$

(双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片)及 $10^{-4}\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ (双羟萘酸噻嘧啶片)在麦氏浴槽营养液内分别加入药物,阴性对照组加入 0.7% 二甲亚砜,观察记录虫段活动情况。显效指标为在营养液中加入药 15min,虫段出现强直性收缩,洗去药液 5min 后,虫段仍未恢复节律性收缩活动。

1.3.3 双羟萘酸噻嘧啶驱治猪蛔虫效应比较试验 取出生二月后断乳小猪随机分成 6 组,每组 6 只,雌雄各半,每组分栏饲养。自南昌市生猪屠宰场采集活体雌性猪蛔虫若干条,置于 NS 中洗涤 5~6 次,将虫体移置于培养皿内,用眼科剪将虫体自阴门处作纵向剪开,取近阴门处子宫端 2~5cm 段,将子宫内虫卵挤刮而出,挑取少量虫卵镜检为全部系受精卵后,遂收集于洁净培养皿内,采用人工孵育,体外常规培养(双玻皿滤纸培养法^[2]),于 30°C 温箱内孵育三周,镜检感染性蛔虫卵(含幼卵)达 98% 后,置于室温下待用。给每头小猪经口人工感染猪感染性蛔虫卵 200 ± 20 个,于感染 62d 后分别给予双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片及普通片、阿苯达唑、左旋咪唑片(各组剂量见表 3)治疗,观察各组抗虫效果,以改良加藤氏厚涂片法于断乳小猪治疗前后检测其大便克粪便虫卵数 (EPG, $\bar{x} \pm s$ 表示),计算 88h、186h 虫卵阴转率。

1.3.4 腹腔注射 LD_{50} 测定 腹腔注射所用剂量范围是 $212.5 \sim 107.5\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,剂量间距为 1:0.85,每只小鼠接受容量为 $0.5\text{mL}/20\text{g}$ 。取小鼠 50 只,雌雄各半,随机分成 5 组。第 1 组至第 5 组分别腹腔注射双羟萘酸噻嘧啶 212.5、180、152.5、127.5 和 $107.5\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,注射后即时观察动物的反应情况,连续观察 14d,记录动物毒性反应情况和死亡动物分布情况,记录小鼠死亡数,对死亡动物及时进行尸检,记录病变情况,结果输入计算机用 Bliss 法计算其 LD_{50} 值及 95% 可信限(见表)。

1.3.5 口服灌胃的最大耐受量试验 根据文献^[3]记载双羟萘酸噻嘧啶口服很少吸收,故此,我们将最大浓度 10% 双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片混悬液测定,进行了小鼠口服双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片的最大耐受量试验。20 只昆明种小鼠,雌雄各半,饲养观察一日活动正常,进食良好,禁食 6h 后,每鼠灌服相当于噻嘧啶 $4\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片混悬液,给药体积 $0.8\text{mL} \cdot 20\text{g}^{-1}$,6h 后用等剂量双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片混悬液重复灌服一次,连续饲养 14d,观察小鼠的中毒症状及死亡情况。

1.4 统计分析 各组数据以平均数加减标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组均数间差异采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片对猪蛔虫活动的影响 双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片在肠虫营养液中 2×10^{-4} 、 10^{-4} 、 $2 \times 10^{-5}\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的含量下对整体猪蛔虫活动有明显影响,加药后 15min、30min 及 1h,双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片高剂量组虫体僵硬数及 6h 后蛔虫死亡数均明显高于低剂量组,两组差别有显著性意义(表 1)。

表 1 双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片(双咀嚼片)对猪蛔虫活动的影响

组 别	数量	营养液含药量 (mg·mL ⁻¹)	加药后虫体僵硬虫数				加药后 6h 蛔虫死亡数
			15m in	30m in	1h	2~ 6h	
阴性对照	40		1	1	1	2	1
双咀嚼片 1	40	2× 10 ⁻⁴	32	38 ^c	40	40	24
双咀嚼片 2	40	10 ⁻⁴	25	31	36	40	21
双咀嚼片 3	40	2× 10 ⁻⁵	13	11	23	31	13
双片组	40	10 ⁻⁴	27	34	39	40	22

注: 双咀嚼片 1 组与阴性对照组同时时间相比较^c $P < 0.01$, 其余各组与阴性对照组同时时间相比较 $P < 0.05$, 双咀嚼片 1、2 组与双片组同时时间相比较 $P > 0.05$ 。

2.2 双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片对猪蛔虫头颈段的麻痹作用
双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片以不同浓度加入有节律活动的猪蛔虫头颈段营养液中明显导致其头颈段麻痹活动停止, 洗去药液 5m in 后, 大多数虫段仍处麻痹状态不能恢复其节律性收缩活动结果见表 2。

表 2 双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片对猪蛔虫头颈段的麻痹作用

组别	实验虫段数	营养液含药量 (mg·mL ⁻¹)	显效虫段数
阴性对照组	30		1
双咀嚼片 1	30	2× 10 ⁻⁴	25 ^c
双咀嚼片 2	30	10 ⁻⁴	19 ^b
双咀嚼片 3	30	2× 10 ⁻⁵	10 ^b
双片组	30	10 ⁻⁴	21 ^b

双咀嚼片 1 组与阴性对照组比^c $P < 0.01$, 其余各组与阴性对照组相比较^b $P < 0.05$, 双咀嚼片 1、2 组与双片组比^a $P > 0.05$ 。

2.3 各药治疗前后 EPG 变化及虫卵阴转率情况 各给药组与阴性对照组(第 5 组)相比, 治疗前及治疗后 88h、186h 其 EPG 值和虫卵阴转率均有高度显著性差异($P < 0.01$); 噻嘧啶咀嚼片高剂量组治疗后 88h 与阿苯达唑(10mg·kg⁻¹)组比虫卵阴转率及 EPG 有显著性差异($P < 0.05$)(表 3)。可见, 噻嘧啶咀嚼片驱蛔虫效果确切且具备起效较快的特点。

2.4 小鼠腹腔注射双羟萘酸噻嘧啶的 LD₅₀(Bliss 法) 经腹腔注射双羟萘酸噻嘧啶后 15m in, 部分小鼠开始出现四肢肌张力增高, 呼吸急促, 瞳孔放大, 30m in 后出现死亡情况, 死亡前挣扎跳跃, 死亡多发生在 0.5~ 12h, 对死亡小鼠进行

表 3 治疗前后 EPG 变化情况及虫卵阴转率

组别	动物数	EPG($\bar{x} \pm s$)			虫卵阴转率(治疗后)	
		治疗前	治疗后 88h	治疗后 186h	88h(%)	186h(%)
1	6	1590.0±557.8	298.0±186.7	108.0±234.9	17(1)	67(4)
2	6	1520.0±517.0	31.0±79.8	27.0±66.3	33(3)	67(4)
3	6	1512.0±414.0	20.0±49.0	26.0±63.7	83(5)	83(5)
4	6	1606.0±616.9	44.0±107.8	40.0±98.0	83(5)	83(5)
5	6	1570.0±641.1	0.0±0.0 ^b	0.0±0.0 ^b	100(6) ^b	100(6) ^b
6	6	1576.0±564.1	1534.0±529.7	1648.0±668.1	0(0)	0(0)

注: 第 1 组阿苯达唑 10mg·kg⁻¹; 第 2 组左旋咪唑口服片 2.5 mg·kg⁻¹; 第 3 组双羟萘酸噻嘧啶口服片 10mg·kg⁻¹; 第 4 组双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片 8mg·kg⁻¹; 第 5 组双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片 10mg·kg⁻¹; 第 6 组阴性对照组。虫卵阴转率栏中括号内数据表示虫卵阴转动物数。1、2、3、4、5 组与 6 组各值比较均为 $P < 0.01$, 5 组与 1 组比较^b $P < 0.05$ 。

表 4 小鼠腹腔注射双羟萘酸噻嘧啶的 LD₅₀(Bliss 法)

剂量	对数剂量	死亡率 (%)	实验几率单位	拟合回归几率单位	回归几率单位	LD ₅₀ (mg·kg ⁻¹)	95% 可信限 (mg·kg ⁻¹)
212.5	2.33	100	6.96	6.61	6.61		
180.0	2.26	70	5.52	5.89	5.89		
152.5	2.18	50	5.00	5.18	5.18	146.44	127.74~ 167.86
127.5	2.11	50	5.00	4.40	4.40		
107.5	2.03	0	3.04	3.66	3.66		

了即时尸检, 未见到明显的肉眼可见的改变。小鼠腹腔注射双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片混悬液 LD₅₀为 146.44mg·kg⁻¹, 其

95% 可信限是 127.74~ 167.86mg·kg⁻¹。
2.5 口服灌胃的最大耐受量试验结果 按试验剂量给药

后,小鼠行为、动作、肌紧张力等均正常,无一死亡。14d后将全部小鼠颈椎脱臼处死肉眼观察解剖的心、肝、肾等脏器未见异常改变。小鼠一天内4次累积灌胃给予双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片的最小致死量应大于 $8\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

3 讨论

目前临床常用的抗肠虫药主要有阿苯达唑、双羟萘酸噻嘧啶、左旋咪唑等。本研究表明双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片、普通片及阿苯达唑、左旋咪唑片在体内外均有显著的抗蛔虫效应,与阴性对照组比较,差异高度显著。双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片驱除体内蛔虫与阿苯达唑相比显现出起效较快的特点,这与两药的药理作用机制不同有密切关系。双羟萘酸噻嘧啶是一去极化神经肌肉阻滞剂,其抗虫作用通过抑制胆碱酯酶,使虫体肌肉强烈收缩并导致痉挛性麻痹甚至死亡而随粪便排出体外,作用直接迅速,所以起效较快^[4]。阿苯达唑不可逆地抑制肠虫对葡萄糖的摄取,从而抑制虫体能量的产生,虫体缺乏能量消耗死亡,故驱虫奏效较慢,一般排虫时间在1WK以上^[5]。

左旋咪唑虽然也是通过抑制虫体的延胡索酸还原酶,使虫体神经肌肉去极化,肌肉发生持续收缩而麻痹,但易引起蛔虫骚动,并发胆道蛔虫率较高;且该药还有免疫抑制作用,不良反应发生较多见,远期疗效不理想。而双羟萘酸噻嘧啶却因其不同的作用途径,一般不导致蛔虫骚动,且作用直接迅速,起效较快。由于双羟萘酸噻嘧啶口服极少吸收^[6],其治疗量对人体及其胆碱酯酶无影响,副反应发生率远较常用的有免疫抑制作用的左旋咪唑低。

本实验结果显示双羟萘酸噻嘧啶咀嚼片和双羟萘酸噻

嘧啶片驱治肠道蛔虫感染疗效确切,两药 $10\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组治疗猪蛔虫感染的EPG及虫卵阴转率无显著性差异($P > 0.05$)。可见咀嚼片剂型改革保持了原有疗效。因咀嚼片良好的口感,消除了普通片存在的苦、酸、涩等弊端,使广大少儿易于接受,使该药能被充分咀嚼,有利于药物短时间内在小肠内直接接触并充分作用于虫体,发挥更好的驱虫效果。在大规模的肠道寄生虫群防群治中具有其独特的优越性,值得临床一试。

参考文献

- 1 余森海. 全国人体寄生虫分布调查实施细则. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志. 全国人体寄生虫分布调查特辑, 1991. 3
- 2 韩家俊, 周梓林. 寄生虫的体外培养. 寄生虫学检验和培养养种技术(医学寄生虫学高师班教材·武汉医学院), 1983. 73
- 3 中国药典 95年版二部
- 4 Bui XV, Phan TS, Tran TV, et al. Efficacy of pyrantel pamoate in ascariasis in vietnamese children. Med Trop, 1997, 57(1): 99
- 5 Upcroft P, Upcroft JA. Drug targets and mechanisms of resistance in the anaerobic protozoa. Clin Microbiol Rev, 2001 Jan; 14(1): 150.
- 6 Fasanmade AA, Akanni AU, Fasanmade AA, et al. Bioequivalence of pyrantel pamoate dosage forms in healthy human subjects. Biopharm Drug Dispos, 1994 Aug, 15(6): 527

收稿日期: 2000- 12- 21