DOI:10.16016/j.1000-5404.1986.01.005

复方硝喹的毒性作用及其防治的实验研究

胡友梅 程天民* 李先珍** 况明书** 朱青平 刘富安 吴廷璜

(药理教研室)

提 要 小白鼠口服抗疟药复方硝喹，ED_{50}为0.18±0.01mg/kg，与已知几种抗疟药比，疗效最高，化疗指数最大（1911）。狗服复方硝喹对肾上腺皮质的毒性反应与服单方相仿，但血中高铁血红蛋白含量则服复方硝喹后有明显升高。服较大的中毒剂量(50mg/kg/日×3)时同时肌注叶酸或甲酰四氢叶酸钙可明显降低狗的死亡率和腹泻发生率，病理组织学检查，小肠病变明显减轻，粘膜上皮杯状细胞显著增多。提示用叶酸或甲酰四氢叶酸钙后能保护复方硝喹对小肠的破坏，因而会大大减轻其临床毒性反应。

关键词 抗疟药；硝喹；复方硝喹；叶酸；甲酰四氢叶酸钙

新抗疟药硝喹经实验证明对疟原虫红细胞内期、组织期及孢子增殖期均有明显的抑制作用[1-6]，复方硝喹（硝喹伍用等量氨苯砜）能明显增强抗疟效果[7]。临床试用0.5mg/kg/日×1～3天的剂量对恶性疟及间疟均有治疗和预防作用[8]。本文在以往对硝喹及复方硝喹毒性研究[9]的基础上进一步研究复方硝喹的毒性作用，并着重于探讨毒性的防治，为临床应用提供依据。

方法与结果

药物 硝喹醋酸盐（Nitroquine acetate，简称硝喹）由上海医药工业研究院合成，应用时将硝喹或伍用等量氨苯砜与吐温80配成各种需要的浓度备用。乙胺嘧啶用4%阿拉伯树胶配成悬浮液。磷酸氯喹及磷酸伯喹配成水溶液。叶酸针剂（常州制药厂），甲酰四氢叶酸钙粉针剂（上海第十二制药厂）均系市售品。

一、复方硝喹等抗疟药的半数有效量、半数致死量和其化疗指数

选体重17～22g的健康小白鼠（昆明株），由腹腔接种感染了伯氏疟原虫的鼠红细胞（疟原虫是1970年从上海寄生虫病研究所引进，实验时用感染率为20%的供血鼠0.5ml血用生理盐水稀释后接种健康鼠50只），小鼠接种后随机分配到各剂量组。每批实验设5～6个剂量组，每组10只动物，雌雄各半。每次实验均设不用药对照组。于接种后第4天灌服复方硝喹，每天一次，连服3天，第8天从尾静脉采血涂血膜，检查原虫感染情况，100个视野（约3万个红细胞）未见原虫则认为治愈。计算每组小鼠治愈的百分数，并计算其半数有效量（ED_{50}）。另外用不感染的健康小白鼠，灌服同样药物，每天一次，连用3天。每批实验设计7～8个剂量组，每组10只动物，观察10天内各组动物累计死亡数，计算其半数致死量（LD_{50}）及化疗指数。为与复方硝喹相对比，同时观察硝喹、乙胺嘧啶、氯喹、伯喹及氨苯砜的ED_{50}和LD_{50}，以及化疗指数。实验结果列于表1。

从实验结果可见复方硝喹的化疗指数最大。硝喹伍用氨苯砜后毒性虽较单用硝喹增加1.7倍，但其疗效约增加3倍。化疗指数大1倍左右。

二、复方硝喹对狗的急性毒性

实验用杂交健康成年狗31只，体重9～15kg，雌雄不限。给药前检查血常规（包括红细胞、白细胞计数和分类，以及血红蛋白），尿及粪便常规，血液生化（包括谷丙转氨酶，麝香草酚絮状实验，麝香草酚浊度，血尿素氮，血糖及高铁血红蛋白）均在正常值范围。动物分设6个组，分别灌服复方硝喹（3及6 mg/kg），硝喹（3及6 mg/kg），

* 防原教研室； ** 寄生虫学教研室

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表1 几种抗疟药对鼠疟的化疗指数

药物	ED_{50} (mg/kg)	LD_{50} (mg/kg)	化疗指数 (LD_{50}/ED_{50})
复方硝喹	0.18±0.01	344.10±21.49	1911
硝喹	0.575±0.06	567.60±37.97	983
氨苯砜	3.76±1.73	958.53±26.69	255
氯喹(基质)	18.71±1.73	1049.7±70.19	56
乙胺嘧啶 *	101.13±10.45	488.7±52.23	4.8
伯喹(基质)	94.77±7.39	393.0±26.29	4.1

*对约氏疟原虫(从北京军事医学科学院引进)的治疗，ED_{50}为0.594±0.028mg/kg，化疗指数为822.7

乙胺嘧啶（6 mg/kg）和氨苯砜（6 mg/kg）。另一组不服药作对照。服药组每天灌药一次，连灌3天，第三次药后24小时检查上述各项指标，随后用3%戊巴比妥钠麻醉，颈动脉放血致死。取肾上腺、脾、淋巴结及胸骨作病理组织学检查。

结果服药各组动物活动和食欲均正常，未发生呕吐或腹泻。除复方硝喹6 mg组的一只狗在给药后谷丙转氨酶由药前16单位升至130单位外，其余动物的肝功能，以及血尿素氮、血糖、血和尿常规等项检查均在正常值范围。复方硝喹6 mg组的高铁血红蛋白较用药前（0.133±0.078g%）明显升高（0.923±0.446g%），统计学处理差异非常显著（见表2）。其余各组用药前后差异均不显著。

病理组织学检查，部分动物的肾上腺皮质见有灶性坏死，该处成团皮质细胞坏死，并有圆细胞浸润。中度病变者有较多坏死灶，轻微病变则仅个别散在。均未发现广泛坏死的严重病变。这种病变发生情况列于表3。

表2 给狗灌服复方硝喹、硝喹、乙胺嘧啶及氨苯砜对高铁血红蛋白的影响

组别	剂量 (mg/kg/日×3天)	动物数	高铁血红蛋白 (g%) 药前	药后
复方硝喹	6	6	0.133±0.078	0.923±0.446 **
硝喹	6	5	0.087±0.071	0.090±0.065
氨苯砜	6	3	0.108±0.084	0.136±0.091
乙胺嘧啶	6	5	0.117±0.071	0.129±0.071
不服药 *	/	4	0.251±0.151	0.096±0.073

*与各用药组相应的时间检查；**与药前比$p<0.01$

表3 狗不同实验组肾上腺皮质坏死病变发生情况

组别	剂量 (mg/kg/日×3)	动物数	中度坏死	轻度坏死	无病变
硝喹	6	5	1	2	2
复方硝喹	6	5	…	3	2
硝喹	3	3	…	…	3
复方硝喹	3	5	…	1	4
乙胺嘧啶	6	5	…	…	5
对照		4	…	…	4

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

以上结果表明复方硝喹与硝喹组并无明显差异。脾、淋巴结、骨髓等组织未见明显改变。

三、叶酸及甲酰四氢叶酸钙对复方硝喹毒性的防治

以往研究结果见狗服用硝喹50mg/kg/日×3天后发生严重中毒反应[9]。本实验设计大剂量复方硝喹分别伍用叶酸和甲酰四氢叶酸钙，观察能否减轻或避免其毒性反应。实验用杂交健康成年狗22只，体重6～13kg，雌雄各半。9只服复方硝喹50 mg/kg/日×3，9只除服同量复方硝喹外同时肌注叶酸4 mg/kg/日×4，且在第4天给予5%葡萄糖生理盐水滴注（30ml/kg）。另4只以甲酰四氢叶酸钙0.3mg/kg/日×4代替叶酸外，其余处理相同。在用药前后观察动物的一般状况、食欲、呕吐和腹泻现象，并作血常规检查，部分动物测血K^+、Na^+、二氧化碳结合力和高铁血红蛋白。在给药后死亡者立即作尸检，存活者在停药后第5天用戊巴比妥钠静脉麻醉，颈动脉放血致死。取肾上腺、胃、十二指肠、空肠、迴肠及结肠，作病理组织学检查。

结果发现复方硝喹组与复方硝喹伍用叶酸或甲酰四氢叶酸钙组在腹泻症状和死亡情况方面有显著差异（表4）。复方硝喹组9只动物有7只发生稀

表4　三组动物消化道症状和死亡情况的比较

组别	剂量 (mg/kg/日×天)	动物数	呕吐		腹泻		死亡	
			发生例	%	发生例	%	发生例	%
复方硝喹	50×3	9	9	100	7	77.8	6	66.7
复方硝喹+叶酸	50×3 4×4	9	8	88.9	2	22.3	0	0
复方硝喹+甲酰四氢叶酸钙	50×3 0.3×4	4	4	100	0	0	0	0

酱色血便，其中6只于第一次药后3～6天死亡。伍用叶酸和甲酰四氢叶酸钙组无一例死亡。三组动物的血常规、血K^+、Na^+及二氧化碳结合力用药前后均在正常值范围。血中高铁血红蛋白药后都较用药前升高，但三组之间差异不显著（$P>0.05$）（见表5）。提示叶酸及甲酰四氢叶酸钙并不能降低高铁血红蛋白血症。

表5 三组动物血中高铁血红蛋白含量的比较

组别*	动物数	高铁血红蛋白（g%）	
		药前	药后
复方硝喹	3	0.190±0.141	1.663±1.151
复方硝喹+叶酸	3	0.265±0.211	1.072±1.273
复方硝喹+甲酰四氢叶酸钙	4	0.206±0.134	1.183±1.065

*各组剂量与表4同

病理组织学观察见肾上腺皮质均有不同程度的坏死病变，三组间无明显差异（表6）。说明伍用叶酸和甲酰四氢叶酸钙对肾上腺皮质并无保护作用。

表6　三组动物肾上腺皮质坏死病变的比较

组别*	观察例数	严重坏死	中度坏死	轻度坏死
复方硝喹	4	2	1	1
复方硝喹+叶酸	3	2	0	1
复方硝喹+甲酰四氢叶酸钙	4	2	2	0

*各组剂量与表4同

复方硝喹伍用叶酸与单用复方组比较，胃肠道、特别是小肠变化有明显差异（表7）。复方硝喹组4/5的动物显小肠粘膜上皮广泛坏死脱落，肠壁变薄裸露，有些部位肠壁内有菌团生长，其中3例的留存粘膜上皮中极少杯状细胞。1例无坏死病变者显杯状细胞增多。复方硝喹伍用叶酸组无1例发生严重病变，仅2例发生上皮灶性坏死脱落，而有4例显示杯状细胞明显增多、几乎满布隐窝上部及绒毛全部被复上皮（图1）。胃和结肠未见显著病变。病理所见与药后出现的消化道症状是一致的。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表7 二组狗小肠粘膜上皮变化的比较

组别	观察例数	粘膜上皮坏死脱落			绒毛顶端灶性坏死	杯状细胞		
		严重	中度	无病变		明显减少	明显增多	无变化
复方硝喹	5	4	0	0	1	3	1	1
复方硝喹+叶酸	5	0	2	2	1	1	4	0

讨 论

一、复方硝喹对小白鼠的毒性作用比单方硝喹大1.7倍，但对狗的毒性除血中高铁血红蛋白升高外其余两者相仿。复方硝喹的抗疟作用比单方强3倍。本文作者[7]曾研究氨苯砜对硝喹的增效作用，证明复方硝喹抑制伯氏疟原虫的效果比单方强9倍。可能一方面由于氨苯砜对硝喹的增效作用，另一方面延长硝喹的半衰期，从而加强硝喹的抗疟效果。量效实验比较的结果还显示复方硝喹的化疗指数远大于常用的乙胺嘧啶、氯喹及伯喹等抗疟药。由此进一步证明复方硝喹是一个比较安全而有效的抗疟药。

二、给狗灌服复方硝喹达一定剂量时可发生毒性反应，表现有肾上腺皮质和小肠的病变，以及以稀血便为特征的消化道症状。稀血便显然是由于肠上皮广泛坏死脱落所致。用叶酸及甲酰四氢叶酸钙后肠粘膜受到保护，动物免于死亡。由此可见肠道病变是造成动物死亡的主因。硝喹和复方硝喹是叶酸拮抗剂，抑制DNA的合成，因而抑制了隐窝细胞分裂，使绒毛上皮失去来源，遂发生粘膜上皮广泛坏死脱落，从而造成一系列严重后果。因此，对这种毒性的防治应着眼和着重于对肠粘膜上皮，特别是对具有旺盛分裂增生功能的隐窝细胞的保护。

三、四氢叶酸活化型是一碳单位的传递体，对DNA的合成具有重要意义。Castles (1971)[10]曾给狗口服叶酸和肌注甲酰四氢叶酸钙试图防治乙胺嘧啶的毒性反应，结果前者无效，后者有保护作用。我们考虑乙胺嘧啶能损伤肠道，取叶酸口服途径无效很可能是由于肠道损伤而影响对药物的吸收所致。硝喹与乙胺嘧啶均为叶酸拮抗剂，对肠道的毒性类似，因此我们设计叶酸和甲酰四氢叶酸钙均选用肌注的途径。实验结果证明，灌服复方硝喹同时肌注叶酸或甲酰四氢叶酸钙的方法进行防护，可明显降低相当50倍临床剂量的复方硝喹的毒性作用。其防护基础很可能是由于叶酸和甲酰四氢叶酸钙保护了小肠隐窝上皮细胞的核酸代谢和分裂增生功能。观察受叶酸保护的5只狗，有4只显示小肠粘膜杯状细胞明显增多。众所周知，杯状细胞是肠上皮中的分化成熟型细胞。这也有利于说明伍用叶酸后保护了隐窝增生细胞，从而使粘膜上皮细胞得以分化成熟。而大量的杯状细胞分泌粘液，又可对肠上皮起保护作用。

四、使用叶酸和甲酰四氢叶酸钙，可有效地防护复方硝喹的毒性作用。而疟原虫却不能利用外源叶酸和甲酰四氢叶酸钙[11]。因此，复方硝喹伍用叶酸或甲酰四氢叶酸钙，既可防治毒性作用，又不会降低抗疟效果。临床需用大剂量复方硝喹时，同时肌注叶酸或甲酰四氢叶酸钙是一个有实际应用价值和前途的治疗方案。叶酸价廉，更有实用价值。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

参 考 文 献

1. Thompson PE, et al: Antimalarial Activity of 2, 4-Diamino-6-(3,4-Dichlorobenzyl) Nitroso Amino Quinazoline (CI_{679} Base) and CI_{679} Acetate. Am J Trop Med Hyg 1970; 19(1):12～26

2. 胡友梅等：硝喹对食蟹猴疟原虫组织期的作用。中国药理学报 1986; 7(1):78～81

3. 冯紫英等：硝喹对食蟹猴疟原虫孢子增殖的作用。中国药理学报 1982; 3(4):273～276

4. 王兴相等：硝喹阻断鸡疟原虫孢子增殖机制的研究。药学学报 1981; 16(5):334～341

5. 王兴相等：复方硝喹对恶性疟原虫孢子增殖期的作用。中华医学杂志 1980; 60(8):483～484

6. 刘连珠等：复方硝喹对间日疟原虫孢子增殖期的作用。中华医学杂志1980; 60(7):426～427

7. 第三军医大学523组：氨苯砜对679醋酸盐的增效作用。第三军医大学医学科研资料 1977; (1):45～48

8. 第七军医大学523组：小剂量CI_{679}醋酸盐治疗疟疾临床观察初步报告。第七军医大学医学科研资料《疟疾防治专辑》1974; (2):33～45

9. 胡友梅等：对抗疟药硝喹毒性作用的观察和安全剂量的确定。解放军医学杂志 1981; 6(4): 211～215

10. Castles TR, et al. The Effects of Folic Acid or Folinic Acid on Toxicity of Pyrimethamine in Dogs. Toxicol Appl Pharmacol 1971; 20(4):447～459

11. Irwin W Sherman: Biochemistry of Plasmodium (Malarial Parasites). Microbiological Review 1979; 43(4):453～495

Study on Toxicity of Nitroquine-Dapson Compound & Its Treatment with Folic Acid or Folinic Acid in Mice and Dogs

Hu Youmei, et al

(Department of Pharmacology, Third Military Medical College)

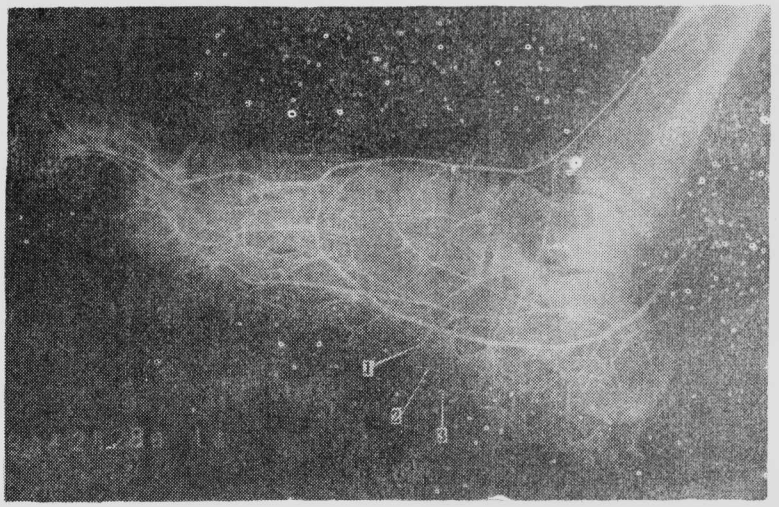
The toxic effects of nitroquine-dapson compound(NQD) per os in mice and dogs were studied. The therapeutic index of NQD in mice(1911) is the highest among the six antimalarial preparations studied. The toxic effects(50mg/kg/day for 3 successive days per os) in dogs were similar to those of nitroquine. They manifested themselves as the injury on the adrenal cortex and on the intestinal epithelium. When folic acid (4 mg/kg/day for 4 successive days) or folinic acid(0.3 mg/kg/day for 4 successive days) was administered intramuscularly to the toxicated animals, both the death rate and the incidence of diarrhea were greatly reduced. Pathological study confirmed that the injury on the intestinal epithelium was much milder and the goblet cell was much more numerous in the treated than in the untreated. The results suggest that folic acid or folinic acid can protect the less differentiated cells in the intestinal crypts, so that the clinical manifestations of NQD toxicity are reduced after treatment.

Key words: Antimalarial drug; Nitroquine(NQ); Nitroquine-dapsone(NQD); Folic acid; Folinic acid

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

足底皮瓣血管神经的巨微解剖

（正文见第18页）

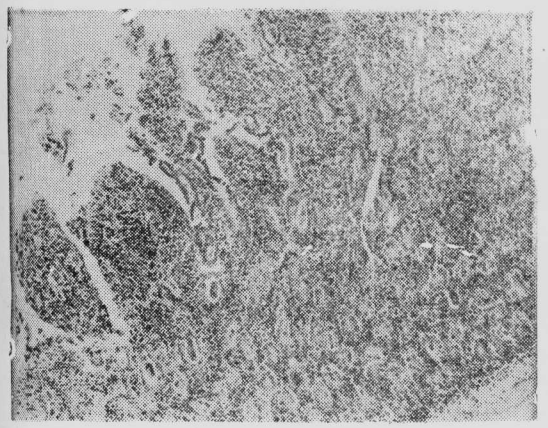


足动脉的X线照片

1.足底动脉的皮支；2.横向伸展的一级分支；3.垂直进入足底皮肤的次级分支

复方哨喹的毒性作用及其防治的实验研究

（正文见第25页）



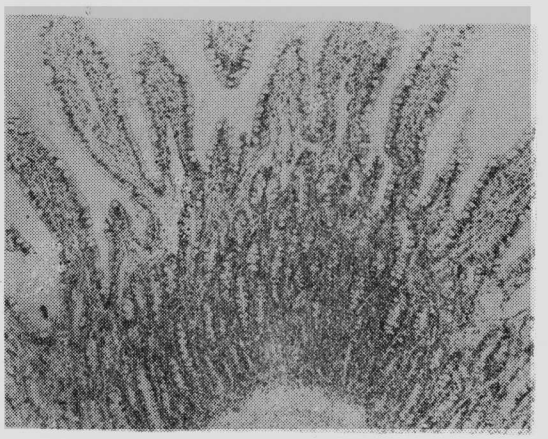


图1　左图、狗灌服复方哨喹，小肠粘膜上皮坏死脱落。HE×84
右图：狗灌服复方硝喹，同时肌注叶酸，小肠粘膜上皮基本完好，杯状细胞几乎满布隐窝上部及绒毛。HE×84

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net