

疟疾研究

化学合成药与临床观察专集

内部资料 注意保密

全国疟疾防治研究领导小组办公室

一九七五年七月

毛主席语录

列宁为什么说对资产阶级专政，这个问题要搞清楚。这个问题不搞清楚，就会变修正主义。要使全国知道。

思想上政治上的路线正确与否是决定一切的。

备战、备荒、为人民。

把医疗卫生工作的重点放到农村去。

中国人民有志气，有能力，一定要在不远的将来，赶上和超过世界先进水平。

独立自主，自力更生。

目 录

预防药

“防疟片 3 号”的化学合成、药理及现场防治观察

.....上海医药工业研究院、后字 243 部队等 (1)

喹啉片预防疟疾效果的总结报告.....喹啉片总结鉴定会 (24)

“防疟片 2 号”对人和动物的抗疟作用和毒性.....后字 236 部队五所 (32)

周效磺胺伍用乙氨嘧啶预防疟疾的试用研究(一)

.....赴海南岛、云南、热区试用研究组 (38)

周效磺胺伍用乙氨嘧啶预防疟疾的试用研究(二)

.....赴云南、海南岛、江苏试用研究组 (43)

周效磺胺伍用乙氨嘧啶预防疟疾扩大试用研究的报告.....昆字 303 部队等 (51)

周效磺胺伍用乙氨嘧啶控制间日疟流行的效果观察(摘要)

.....南京地区疟疾防治研究专业组 (54)

“防疟片 1 号”预防疟疾的效果观察.....后字 236 部队五所 (56)

“防疟片 1 号”、“2 号”和“3 号”预防服药控制间日疟流行的效果观察

.....南京地区疟疾防治研究专业组 (59)

六种防疟药在云南及热区的防疟效果.....昆字 323 部队等 (64)

治疗药

疟疾治疗药“6701”的研究.....上海第十四制药厂 (68)

“6701”合并周效磺胺、乙氨嘧啶治疗疟疾的初步观察.....上海第十四制药厂 (76)

疟疾治疗药“7351”的研究.....上海寄生虫病研究所疟疾研究室 (78)

“治疟宁”对间日疟治疗效果的观察.....后字 236 部队五所等 (86)

“治疟宁”治疗间日疟 222 例疗效观察.....南京地区疟疾防治研究专业组 (91)

抗疟药“56 号”的实验研究和临床观察.....上海药物研究所等 (94)

抗疟药“56 号”的体内转运.....上海药物研究所 (103)

常山乙醚衍生物“7002”的合成.....北京制药工业研究所等 (109)

常山乙醚衍生物“7002”的抗疟作用及临床疗效观察.....中国医学科学院药物研究所 (112)

抗疟药“CI₆₇₉”醋酸盐的研究(摘要).....后字 245 部队等 (118)

肌肉注射吡咯喹啉对疟疾疗效的初步观察.....后字 236 部队五所 (121)

抗疟药“8141”的合成、毒性及疗效初步报告.....南京地区疟疾防治研究专业组 (123)

“9738”的合成及抗疟作用(摘要).....南京地区疟疾防治研究专业组 (126)

“Am411”的合成及抗疟作用.....上海医药工业研究院等 (127)

“808 号”药的合成和抗疟作用.....上海第二制药厂 (130)

抗药性调查及其它

云南省孟定恶性疟原虫对防疟片 3 号、防疟片 2 号、氯喹伍用乙氨嘧啶的

临床敏感性观察·····	昆字 323 部队疟疾防治组(132)
云南省孟定恶性疟原虫对氯喹的临床敏感性观察·····	昆字 323 部队疟疾防治组(136)
疟原虫的抗药性(文献综述)·····	上海药物研究所(142)
新民大队控制疟疾暴发流行的总结报告·····	云南盈江疟疾防治研究试点组(155)
周效磺胺副反应及其治疗的初步意见·····	上海第二医学院附属第三医院(160)
三种检查疟原虫方法的比较·····	昆字 323 部队(164)
一种猴疟原虫的鉴定报告·····	上海寄生虫病研究所疟疾研究室(168)
我国猴体内发现一种巴白虫, 獼猴内突虫·····	首都医院科研组等(174)

“防疟片 3 号”的化学合成、药理 及现场防治试验

上海医药工业研究院
中国人民解放军后字 243 部队
上海第二制药厂
上海第十一制药厂
上海第十四制药厂
广东地区现场试用组
云南地区现场试用组
江苏地区现场试用组
上海市卫生局药品检验所

遵循伟大领袖毛主席“备战、备荒、为人民”的教导，为了寻找新的口服长效抗疟药物，从 1965 年开始，根据国外的报导中有关 4-氨基喹啉类的嘧啶嘧啶衍化物具有长效抗疟作用，而合成了此类化合物。经过筛选及初步毒性测定，发现 1,3-双〔4-(7'-氯代喹啉基-4')嘧啶-1〕丙烷的四磷酸盐(简称磷酸喹派)较为满意。经过进一步实验研究，证明喹派确有比较长效的抗疟作用，其对鼠疟原虫的实验治疗和预防效果，均比氯喹为佳，其毒性比氯喹为低，是极有希望可推荐为现场试用的口服长效防疟药。但鼠疟原虫耐氯喹株对喹派有一定程度的交叉耐药性，乃于 1968 年又进行了喹派的复方研究。在喹派分别与周效磺胺、2-磺胺-3 甲氧吡嗪(SMPZ)、氨苯砒(DDS)、二乙酰氨苯砒(DADDS)及 M-6701 等两药配伍的复方对鼠疟原虫耐氯喹株的实验治疗中，均显有一定疗效，其中又以喹派与周效磺胺两药配伍复方的疗效较好，于是进而过渡到人体试服，

然后推荐现场治疗和预防试用。1969 年在海南和江苏两地区现场扩大防治试用证实其预防效果后，经过鉴定定名为“防疟片 3 号”(简称防 3)，正式投产使用。

现将“防疟片 3 号”的合成制剂、药理及现场防治试用结果综合报告如下：

一、合 成 制 剂

“防疟片 3 号”是由磷酸喹派(1,3-双〔4-(7'-氯代喹啉基-4')嘧啶-1〕丙烷的四磷酸盐)和周效磺胺(4-(对氨基苯磺酰胺基)-5,6-二甲氧基嘧啶)两药配伍而成的复方。周效磺胺已定型投产，国内外普遍使用，合成资料从略。

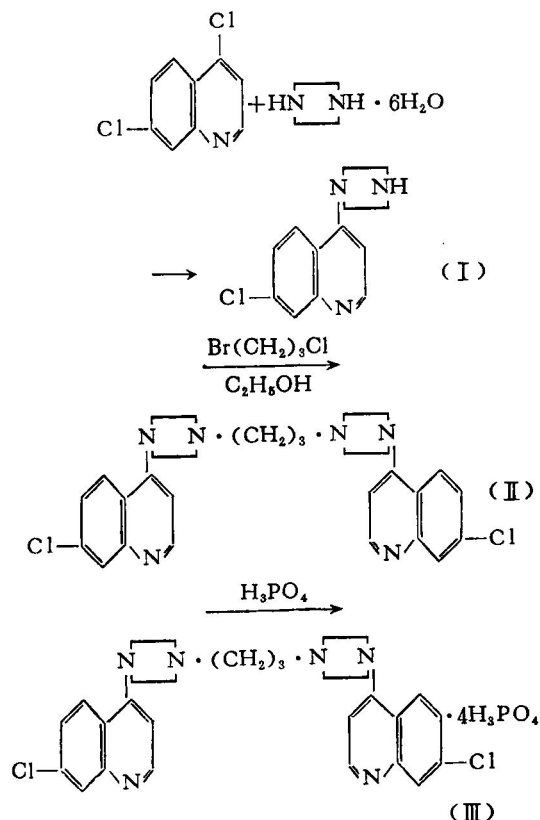
(一) 磷酸喹派的合成

磷酸喹派的合成，基本按照 1965 年英国专利(Brit. 991838)报导中的一个方法，在工艺方面作了一些改进。其合成步骤简要共分

三步:

1. 4, 7 二氯喹啉与六水嘧啶缩合;
2. 缩合物与 1, 3-溴氯丙烷反应得 喹啉游离碱;

3. 最后与磷酸成盐精制。其化学反应方程式如下:



合成工艺改进, 主要的有: 1. 第一步反应中回收 40—50% 的嘧啶; 2. 第二步反应中, 省去进口原料丁酮, 以乙醇代之, 反应时间由原来 15 小时缩短为 5 小时, 省去了原来氯仿提取和乙醇处理等麻烦而不安全的操作; 3. 以 1, 3-溴氯丙烷(生产奋乃静的中间体)代替价昂的 1, 3-二溴丙烷, 但反应时间比用 1, 3-二溴丙烷要适当延长为 10 小时; 4. 以碳酸钠代替三乙胺作去酸剂; 5. 最后一步成盐精制, 原来分二步进行, 现合并为一步, 省去大量异丁醇, 直接在水中成盐并重结晶。

现用合成方法: 从略。

1970 年防, 成批投产以后, 根据生产发展的需要, 对磷酸喹啉的生产工艺又作了多次改革, 现将试用过的五种不同工艺简要介绍如下:

1. 老工艺: 4, 7-二氯喹啉和六水嘧啶缩合后经酸碱处理(除去杂质), 生成的缩合物与 1, 3-二溴丙烷和三乙胺在乙醇中反应得喹啉盐基。喹啉盐基与磷酸成盐精制得成品。

2. 新工艺(未处理): 在 4, 7-二氯喹啉和六水嘧啶缩合后, 省略了酸碱处理。在后一步反应中, 原料 1, 3-二溴丙烷和三乙胺分别改为 1, 3-溴氯丙烷和碳酸钠。

3. 新工艺(酸碱处理): 原料同新工艺(未处理), 恢复酸碱处理。

4. 新工艺(乙醇处理): 原料同新工艺(未处理), 缩合后以乙醇处理代替酸碱处理。

5. 纯品: 新工艺(酸碱处理)生产的喹啉盐基, 经过二次氯仿溶解, 硅胶吸附, 然后蒸去氯仿, 加入丙酮得喹啉盐基纯品, 再与磷酸成盐精制而得。

各种不同工艺生产的磷酸喹啉, 经层析分析显色后大多可出现三点, 如图 1 所示。

老工艺生产的磷酸喹啉含有杂质②(见

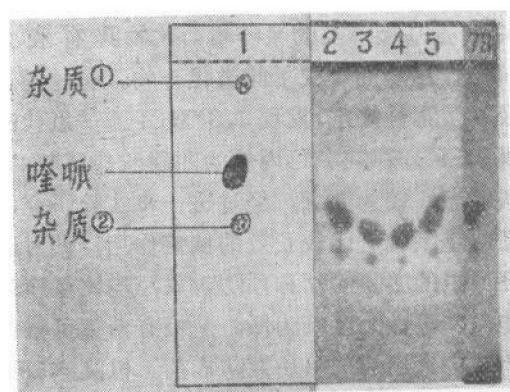


图 1 各种不同工艺生产的磷酸喹啉层析分析显色图

- (1) 三个点的示意图;
 磷酸喹啉: R_f 一般为 0.40~0.55
 杂质①: R_f 一般为 0.85~0.92
 杂质②: R_f 一般为 0.27~0.37
- (2) (5) 新工艺(酸碱处理);
 (3) 新工艺(未处理);
 (4) “老工艺”(7B) 新工艺(乙醇处理);
 (2) — (4) 均为小样, (5) 为大样。

图 1(4))，新工艺(未处理)生产的磷酸喹哌除含有杂质②外还含有杂质①(见图 1(3))。当发现这个问题后，为了保证产品质量，在新工艺基础上恢复了酸碱处理。为了简化操作，又将酸碱处理改为乙醇处理。新工艺酸碱处理与乙醇处理生产的磷酸喹哌的色层分析，同老工艺生产的磷酸喹哌，都含有杂质②〔分别见图 1(2)、1(5)及 1(7B)〕而磷酸喹哌纯品基本不含有杂质点。

杂质①已证明是第一步缩合反应中产生的副产品 1,4-双(7'-氯代喹啉基-4')嘧啶，即酸碱处理时除去的杂质；而杂质②尚未弄清。

(二) 磷酸喹哌的性状和规格

按上述工艺生产的磷酸喹哌，其干燥品含 $C_{29}H_{32}N_6Cl_2 \cdot 4H_3PO_4$ 不得少于 98%。为

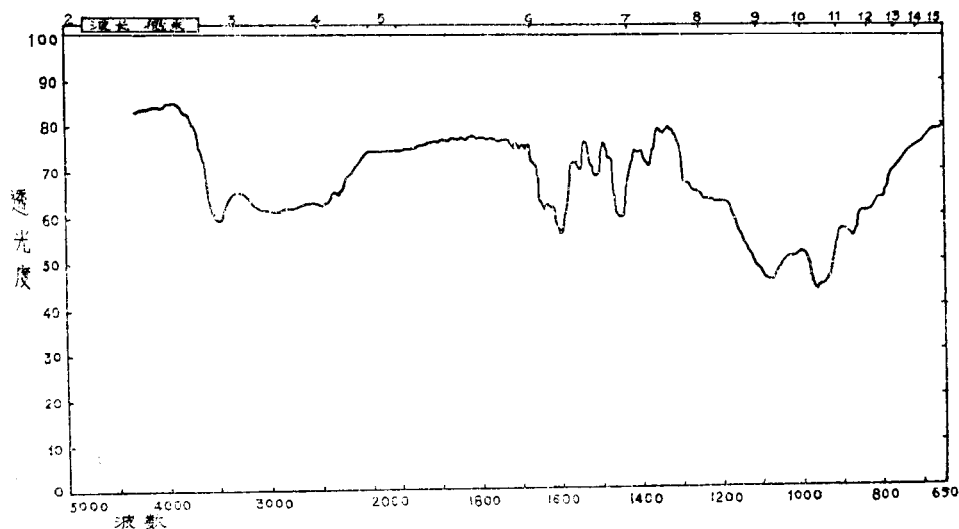


图 2 磷酸喹哌红外光吸收光谱(KBr压片)

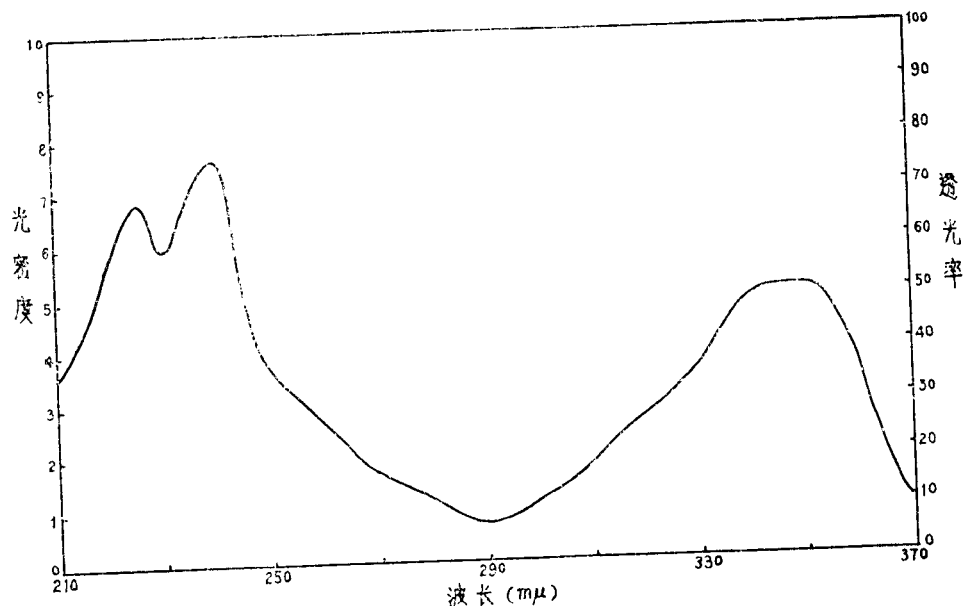


图 3 磷酸喹哌紫外光吸收光谱

浅黄色结晶性粉末，无臭，味苦，有引湿性。见光易变色，但其化学性质从化学分析、紫外吸收光谱和纸层析检查结果看来并无改变，疗效和毒性等生物反应也无明显的变化。

本品在水中微溶，在热水(约90℃)中易溶，在盐酸中极易溶解，在氯仿、无水乙醇等有机溶剂中几乎不溶。

熔点：本品的熔点(中国药典1963年版二部附录16页)为247—250℃，熔融时同时分解。

吸收系数：取本品，精密称定，按干燥品计，制成浓度约为0.001%的N/10盐酸溶液，在分光光度计上测定220—370m μ 之间的光密度，在波长226 $\pm$ 1m μ ，240 $\pm$ 1m μ ，约349m μ 处应有吸收峰。在波长240 $\pm$ 1m μ 处的吸收系数($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)应为536—575，在波长约349m μ 处的吸收系数($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)应为347—373。红外光吸收光谱见图2。紫外光吸收光谱见图3。

(三)防3的制剂规格

本品每片含磷酸喹啉($\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{Cl}_2 \cdot 4\text{H}_3\text{PO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)0.250—0.288克(相当于无水磷酸喹啉0.233—0.268克)和周效磺胺0.0465—0.0535克。处方如下：

磷酸喹啉 269克(相当于无水磷酸喹啉250克)

周效磺胺 50克
淀粉浆(10%) 100克
滑石粉 5克
淀粉 10克
硬脂酸镁 2.5克

制片时取周效磺胺用磷酸喹啉稀释混合均匀，照中国药典的方法制成颗粒，60℃干燥，加入按处方中所示用量的滑石粉、淀粉、硬脂酸镁，压制成等重的片剂1000片，包糖衣，即成糖衣片。

二、药 理

(一)抗 疟 作 用

1. 对鼠疟原虫(*P. berghei*)正常株的防治效果

(1)实验治疗：实验方法为抑制性治疗，即在动物腹腔接种鼠疟原虫后24小时，给药一次，感染5天后检查小白鼠外周血液中有无原虫出现，以每鼠的血片油镜(目镜10X，物镜100X)检查50个视野未找到原虫为阴性，作为疗效指标。药物用1%西黄蓍胶浆配成不同浓度的混悬液，以灌胃法给药。除磷酸喹啉以外，同样以磷酸氯喹治疗，然后均按寇氏方法计算其半数效量(ED_{50})，以此指标比较疗效。磷酸喹啉的 ED_{50} 为4.0毫克(基质)/公斤，磷酸氯喹的 ED_{50} 为10.5毫克(基质)/公斤(表1)，即喹啉对鼠疟原虫正常株的疗效为氯喹的2.6倍。

表1 喹啉和氯喹的磷酸盐对鼠疟原虫正常株的治疗效果

药物剂量 (毫克/公斤)	鼠疟正常株		药物剂量 (毫克/公斤)	鼠疟正常株	
	检查数	转阴数		检查数	转阴数
四磷酸喹啉：			二磷酸氯喹：		
1.68……	10	0	3.36……	10	1
2.40……	10	0	4.80……	10	0
3.43……	10	2	6.86……	9	3
4.90……	10	9	9.80……	10	5
7.00……	10	10	14.00……	10	7
10.00……	10	10	20.00……	9	8

注：四磷酸喹啉和二磷酸氯喹对鼠疟原虫正常株的 ED_{50} 分别为4.0和10.5(毫克/公斤)，二者之比的比值为2.61

(2)实验预防：采用一次或连续三次(每天一次)灌服药物，分别于停药后半个月、一个月及两个月时接种鼠疟原虫正常株，感染后7天和11天各涂血片检查有无原虫出现(观察指标与前述实验治疗相同)，以判定预防效果。通过上法实验结果表明：喹啉游离碱每天一次，每次200毫克/公斤，连续灌

服三天，可有两个月的预防效果；喹啉四盐酸盐一次灌服 100 毫克（基质）/公斤可有一个月的预防效果，而一次灌服 300 毫克（基质）/公斤，可有一个半月的预防效果。同批实验用磷酸氯喹每天一次灌服 50 毫克（基

质）/公斤，连服三天，总剂量为 150 毫克（基质）/公斤，仍无半个月的预防效果。以上实验结果（见表 2）表明，喹啉对鼠疟原虫正常株具有明显的长效预防作用，其长效时间与剂量大小有关。

表 2 喹啉和氯喹对鼠疟原虫正常株的预防效果

每 天 剂 量	停药后	检 查 例 数			阴 性 例 数			
	半个月	1 个月	1½ 个月	2 个月	停药后 半个月	1 个月	1½ 个月	2 个月
(7 天后检查结果)								
喹啉游离碱:								
50毫克/公斤, 连服 3 天.....	6	6	6	6	6	6	1	0
100 毫克/公斤, 连服 3 天.....	6	6	6	6	6	6	6	6
对照	6	6	6	6	0	0	0	0
四盐酸喹啉:								
100 毫克/公斤, 服 1 天	...	8	6	8	...	8	0	0
300 毫克/公斤, 服 1 天	...	...	8	8	...	...	8	6
对照	6	6	6	6	0	0	0	0
磷酸氯喹:								
50 毫克/公斤, 连服 3 天	6	6	...	...	0	0	...	...
(11天后检查结果)								
喹啉游离碱:								
50 毫克/公斤, 连服 3 天	6	6	4	4	5	3	1	0
100 毫克/公斤, 连服 3 天.....	6	6	6	6	6	6	6	6
对照.....	4	4	3	5	0	0	0	0
四盐酸喹啉:								
100 毫克/公斤, 服 1 天	...	8	2	5	...	8	0	0
300 毫克/公斤, 服 1 天	...	...	8	8	...	...	8	6
对照	...	5	6	6	...	0	0	0
磷酸氯喹:								
50 毫克/公斤, 连服 3 天	3	6	...	...	0	0	...	...

2. 对猴疟原虫 (P. inui) 的防治效果

(1) 实验治疗：实验用猴 5 只，感染猴疟原虫后，俟血中出现原虫后，按表 3 规定的剂量，灌服治疗药物一次。给药后每 2 天查血一次，观察血内原虫是否消失。为了追踪观察远期效果，在给药后第 51 天再进行复查一次。实验结果表明：顿服磷酸喹啉 15 毫克（基质）和 25 毫克（基质）/公斤的各 1 只猴，服药后血中原虫迅速消失，直到服药后第 51 天复查时仍为阴性，说明磷酸喹啉对猴疟原虫有良好的治疗效果；顿服周效磺胺 1 毫克/公斤的 1 只猴则并不能使血中原虫消失；喹啉并用周效磺胺的 2 只猴，由于喹啉剂量偏大，实验结果难以说明周效磺胺对喹

啉有无增效作用（表 3）。

(2) 实验预防：磷酸喹啉对猴疟原虫有

表 3 磷酸喹啉、周效磺胺及两药并用一次给药治疗猴疟的效果

药物剂量	检查视野数			原 虫 数		
	给药前	给药后第 4 天	给药后第 51 天	给药前	给药后第 4 天	给药后第 51 天
磷酸喹啉：						
15 毫克/公斤···	10	100	100	5	0	0
25 毫克/公斤···	10	100	100	13	0	0
周效磺胺：						
1 毫克/公斤····	10	10	10	10	3	22
喹啉 + 周磺：						
(15 + 1) 毫克/公斤·····	10	100	100	22	0	0
(25 + 1) 毫克/公斤·····	10	100	100	85	0	0

一定的长效预防作用。每天灌服磷酸喹哌 50 毫克(基质)/公斤,连服 2 天的两只猴,给药后一个月接种原虫,能起到延迟血中疟原虫出现的作用;25 毫克(基质)/公斤×2 天的两只猴中,有 1 只猴也出现相似情况;12.5 毫克(基质)/公斤的 2 只猴则无此现象(表 4)。

表 4 磷酸喹哌对猴疟原虫的一个月预防效果

猴 号	每天剂量(毫克/公斤)	血中原虫率(%)	
		感染后第10天	感染后第20天
7	50.0, 连服 2 天	0	12
9	50.0, 连服 2 天	0	9
8	25.0, 连服 2 天	1	8
10	25.0, 连服 2 天	0	5
6	12.5, 连服 2 天	2	9
11	12.5, 连服 2 天	1	4
5	对照	2	3
12	对照	38	12

3. 对鼠疟原虫耐氯喹株的防治效果

(1) 使用实验室培育的耐氯喹株(20 代以后)进行抑制性治疗,即在接种原虫后 24 小时开始给药,每天一次,连服三天,感染后第 5 天检查外周血液中有无原虫出现,测定磷酸喹哌和磷酸氯喹对鼠疟原虫耐氯喹株和正常株的 ED_{50} , 并进行比较。喹哌对正常株的 ED_{50} 为 1.97 毫克(基质)/公斤/天,对耐氯喹株的 ED_{50} 为 11.3 毫克/公斤/天;氯喹对正常株的 ED_{50} 为 2.5 毫克(基质)/公斤/天,对耐氯喹株的 ED_{50} 不能测得,即使灌服 160 毫克(基质)/公斤/天仍不能使给药动物的血中原虫消失;喹哌和氯喹对耐氯喹株的敏感性比较,以 ED_{50} 作比较指标,喹哌对耐氯喹株的敏感性比氯喹高 14 倍以上(见表 5)。由此可见,鼠疟原虫耐氯喹株对喹哌有一定程度的交叉耐药性,但比氯喹低得多。

(2) 防₃对鼠疟原虫耐氯喹株的防治效果:为了克服鼠疟原虫耐氯喹株对喹哌有交叉耐药性,我们曾经初步以喹哌分别和周效

磺胺、2-磺胺-3 甲氧吡嗪、氨苯砒、二乙酰

表 5 喹哌和氯喹对鼠疟原虫的抑制性效果

药物剂量 (毫克/ 公斤/天)	正常株		药物剂量 (毫克/ 公斤/天)	耐氯喹株	
	检查数	阴转数		检查数	阴转数
磷酸喹哌:			磷酸喹哌:		
0.67.....	10	0	1.25.....	10	0
0.96.....	10	0	2.50.....	10	0
1.37.....	9	0	5.00.....	10	2
1.76.....	8	7	10.0	10	5
2.80.....	10	10	20.00.....	10	7
4.00.....	9	9	40.00.....	10	8
磷酸氯喹:			磷酸氯喹:		
1.20.....	10	1	10.0	10	0
1.75.....	10	0	20.00.....	9	0
2.45.....	10	1	40.00.....	10	3
3.50.....	10	10	80.0	10	0
4.00.....	10	10	160.0	10	0

注:磷酸喹哌和磷酸氯喹对鼠疟原虫正常株的 ED_{50} 分别为 1.97 和 2.48(毫克/公斤/天),并且二者之比的比值为 1.26;它们对鼠疟原虫耐氯喹株的 ED_{50} 分别为 11.3 和 >160.0(毫克/公斤/天),并且二者之比的比值为 14.15。磷酸喹哌对鼠疟原虫正常株的 ED_{50} 和耐氯喹株的 ED_{50} 的比值为 5.74,磷酸氯喹对鼠疟原虫正常株的 ED_{50} 和耐氯喹株的 ED_{50} 的比值为 64.52。

氨苯砒及 M-6701 等五药配成复方筛选,对耐氯喹株抑制性治疗结果表明,喹哌与周效磺胺配成的复方(即防₃)疗效最好,故作进一步实验研究。

防₃对耐氯喹株的抑制性治疗,如前述一样,用连服 3 天的给药方法,检查血中原虫是否出现。实验结果表明:单用周效磺胺 0.1 毫克/公斤/天或磷酸喹哌 1.25—40.0 毫克(基质)/公斤/天之间的不同剂量,均不能使全部给药动物血中原虫消失;但周效磺胺 0.1 毫克/公斤/天并用磷酸喹哌 20.0 毫克(基质)/公斤/天以上剂量则可使全部给药动物血中不出现原虫,而且即使并用磷酸喹哌 5.0 毫克(基质)/公斤/天,亦可使原虫消失(表 6)。这可说明喹哌并用周效磺胺对鼠疟原虫耐氯喹株有一定的增效作用。

防₃对耐药株的预防效果未进行全面的研究,仅对其有无两周预防效果进行实验观察。实验结果表明:单用周效磺胺 100—900

表 6 周效磺胺并用不同剂量喹哌对鼠疟原虫耐氯喹株的抑制性治疗效果

药物剂量 (毫克/ 公斤/天)	检查数	阴转数	药物剂量 (毫克/ 公斤/天)	检查数	阴转数
磷酸喹哌:			喹哌 + 周磺:		
1.25	9	0	1.25 + 0.1...	10	1
2.50	10	0	2.50 + 0.1...	10	3
5.00	10	1	5.00 + 0.1...	10	10
10.00	9	1	10.00 + 0.1...	10	9
20.00	10	4	20.00 + 0.1...	10	10
40.00	10	6	40.00 + 0.1...	9	9
周效磺胺:					
0.1	10	4			

毫克/公斤,一次给药,两周后接种耐药株原虫,均不能使血中原虫阴性;单用磷酸喹哌 300 毫克(基质)/公斤则不能使全部给药动物血中不出现原虫,仅能使部分动物得到保护;磷酸喹哌 300 毫克(基质)/公斤并用周效磺胺 100、300、900 毫克/公斤,仍不能使全部给药动物得到保护(表 7)。

表 7 喹哌并用不同剂量周效磺胺对鼠疟原虫耐氯喹株*的两周预防效果

药物剂量 (毫克/公斤)	检查 动物数	阴转数	药物剂量 (毫克/公斤)	检查 动物数	阴转数
喹哌 + 周磺:			周效磺胺:		
300 + 100...	15	6	100	15	0
300 + 300...	15	3	300	14	0
300 + 900...	15	10	900	15	0
对照:			磷酸喹哌:		
不给药	15	0	300	15	5

* 第 67 次转种

(二) 毒 性

1. 急性毒性

对小白鼠、狗、猴、兔等四种动物观察了防₃或喹哌的急性毒性。

(1) 小白鼠:磷酸喹哌和磷酸氯喹用 4% 淀粉胶浆配制混悬液灌胃,每剂量组各用小白鼠 10 只,雌雄各半,体重在 18~22 克之间,按体重分层随机分组,观察各剂量组给药后 7 天内的死亡数,按寇氏(Kärber)公

式计算 LD₅₀,如表 8 所示,喹哌的 LD₅₀ 大于氯喹的 2.5 倍。这表明喹哌对小白鼠的急性毒性显著低于常用抗疟药氯喹。以疗效指数(LD₅₀/ED₅₀)表示安全范围,喹哌的疗效指数大于氯喹 6.6 倍(表 8),喹哌对小白鼠的安全范围明显大于氯喹。

表 8 喹哌和氯喹对小白鼠的毒性和安全范围

药 物	LD ₅₀ (毫克/ 公斤)	ED ₅₀ (毫克/ 公斤)	疗效指数 (LD ₅₀ / ED ₅₀)
磷酸喹哌...	1,098.5 ± 78.2	4.00	274.6
磷酸氯喹...	437.9 ± 50.4	10.45	41.9

防₃对小白鼠的急性毒性与磷酸喹哌相似,即并用周效磺胺后并不增加喹哌的毒性;以喹哌与周效磺胺(5:1)并用,测定防₃的 LD₅₀为 1465.0 ± 150.7 毫克/公斤(p=0.95),按防₃各剂量组中所含磷酸喹哌剂量计算,其 LD₅₀为 1331.8 毫克(基质)/公斤,同批实验测定单用磷酸喹哌的 LD₅₀为 1226.0 ± 99.9 毫克/公斤(p=0.95)。

(2) 狗:按体重用灌胃法给药,实验结果如下:

一般症状:以一次灌胃服喹哌的剂量(单药及防₃)来看,给予 100 毫克/公斤的 9 只狗,有 6 只发生呕吐,3 只未呕吐的狗中,有 1 只出现全身震颤症状,均未死亡;给予 200 毫克/公斤的 4 只狗,有 3 只发生呕吐,1 只未发生呕吐的动物出现全身震颤症状,最后死亡(表 9)。

实验结果表明,全身震颤应是吸收后的

表 9 防₃和磷酸喹哌对狗的急性毒性反应

药物剂量 (毫克/公斤)	动物数	出现毒性反应的动物数		
		呕吐	全身震颤	死亡
磷酸喹哌 + 周效磺胺:				
200 + 8	2	2	0	...
200 + 0	2	1	1	1
100 + 10	8	5	1	...
100 + 0	1	1	...	...

注:发生全身震颤和死亡的狗未出现呕吐

结果,因发生呕吐的动物均未出现全身震颤,而有全身震颤症状者均未呕吐,大剂量(200毫克/公斤)还可发生死亡。四磷酸喹哌引起的呕吐反应,主要与它对胃的局部刺激有关,因为曾对1只狗静脉注射盐酸喹哌50毫克(基质)/公斤,虽反复出现全身震颤,也未出现恶心呕吐,而应用喹哌肠溶片剂的动物,包括剂量高达200毫克/公斤时,虽有动物死亡,也无恶心呕吐,足以说明。

肝、肾功能及血象变化:给予防₃(磷酸喹哌100毫克基质/公斤+周效磺胺10毫克/公斤)的5只狗,在给药后第1、3、7、14、21天和一个月时检查血象(红、白细胞计数和白细胞分类)、血清谷-丙转氨酶活力(SGPT),给药后第3、7、14、21天和一个月时测定血清酚四溴酞钠滞留量(BSP),给药后第1、12、28天测定血清酚红滞留量(PSP),实验结果表明血象无显著变化,其余指标均在正常值范围内。

重要脏器的病理检查:上述检查肝、肾功能的给药狗,其中3只于给药后第7天宰杀,2只于一个月时宰杀,宰杀时各用1只正常狗对照。各脏器的病理检查,除普遍存在小灶性肾炎外,无特殊变化。但小灶性肾炎是历年来正常狗普遍存在的现象,似与药物无关。

表 10 防₃和磷酸喹哌对猴的急性毒性反应

药物剂量* (毫克/公斤)	相当于人 服四片剂 量的倍数	实验 动物数	出现反应的动物数		
			恶心 呕吐	全身 震颤	死亡
磷酸奎哌:					
200	20	1	1	...	...
100	10	2	1	...	...
50	5	2	...	...	...
25	2.5	2	...	...	...
防 ₃ :					
50	5	3	...	...	...
25	2.5	3	...	...	...
合计	...	13	2	...	...

* 剂量指所含磷酸喹哌基质的剂量;防₃的喹哌与周效磺胺的配伍为10:1。

综合上述观察结果,防₃对狗的急性毒性与喹哌相似,并不比喹哌为高。

(3) 猴:防₃或磷酸喹哌对猴的急性毒性都较对狗为轻(表10)。

(4) 兔:主要观察了喹哌对兔的急性心血管毒性,并与氯喹进行对比。

一般认为,4-氨基喹啉类药物如氯喹等抗疟药的临床事故与该类化合物的心血管毒性有关,防₃的主要成分喹哌是4-氨基喹啉类药物,有必要对其心血管毒性进行研究。

由于家兔对氯喹类的心血管毒性反应较狗更接近临床情况,故喹哌的心血管毒性在兔进行实验观察。实验用四盐酸喹哌和二盐酸氯喹,以每隔2分钟静脉注射相等剂量一次,比较两药产生血压严重下降(40毫米汞柱)、死亡(0毫米汞柱)和心电图(EKG)明显变化所需的累积剂量。实验结果表明:四盐酸喹哌无论产生血压严重下降或出现心电图明显变化所需的平均累积剂量都显著大于二盐酸氯喹(表11,12),即使只有喹哌发生的S-T段下降,其平均累积剂量也大于氯喹发生传导阻滞和血压严重下降的平均累积剂量,且统计处理有显著差别。这就充分说明喹哌对兔的心血管毒性显著小于氯喹。

(5) 急性毒性实验的初步结论:根据四种动物的上述一系列急性毒性试验资料,说明防₃的急性毒性并不比单用喹哌大,即并用周效磺胺并不增加磷酸喹哌的毒性,而磷酸

表 11 喹哌和氯喹反复静脉注射对家兔血压的影响

药 物	出现血压严重下降 (40毫米汞柱)的平均 累积剂量±标准误 (毫克基质/公斤)	血压下降至0毫米汞 柱的平均累积剂量± 标准误(毫克基质/ 公斤)
四盐酸喹 哌*	42.11±8.46	45.14±8.65
二盐酸氯喹	16.21±3.07	23.03±3.17
P 值	<0.01(非常显著)	<0.025(显著)

* 因盐酸盐的水溶性大,才能配制稀溶液供静脉注射,故氯喹也相应地改为盐酸盐,下表同

表 12 喹哌和氯喹反复静脉注射对家兔心电图的影响

药 物	实验动物数	P-R 间期延长		QRS 时间延长		房室传导阻滞		S-T 段下降	
		出现例数	平均累积剂量 (毫克/公斤)	出现例数	平均累积剂量 (毫克/公斤)	出现例数	平均累积剂量 (毫克/公斤)	出现例数	平均累积剂量 (毫克/公斤)
四盐酸喹哌……	10	7	50.30	4	56.25	2	49.82	9	34.46
二盐酸氯喹……	11	11	8.50	11	10.65	9	18.64	0	—

喹哌的急性毒性显著小于常用抗疟药磷酸氯喹。因此,推荐单次或在 2~3 天内连续服用按基质计算与氯喹相等剂量的四磷酸喹哌或并用常用剂量的周效磺胺是比较安全的。

2. 亚急性、慢性毒性

对狗和猴两种动物观察了喹哌或防₃的亚急性、慢性毒性。

(1) 磷酸喹哌对狗的亚急性毒性: 狗 4 只, 用肠溶片剂每隔 7 天灌服 100 毫克(基质)/公斤, 连服 14 周, 总剂量为 1,400 毫克(基质)/公斤, 每次给药后第 2 天检查肝功能的结果是: 3 只狗的血清谷-丙转氨酶始终在正常值范围内, 有 1 只狗在第 2 次和第 12~14 次给药后显著升高(分别为 121.2, 139.4, 353.4, 97.2 单位), 但停药后迅速恢复; 酚四溴酞钠排泄试验 4 只狗始终正常。从长期应用大剂量磷酸喹哌才有个别动物一度出现转氨酶上升现象, 而无酚四溴酞钠排泄障碍, 且停药后血清谷-丙转氨酶迅速下降至正常值范围内, 说明此变化即使与药物有关, 肝脏所受影响也是轻微的, 是可恢复的。每次给药后的血象和给药期间每个月检查肾功能(酚红排泄试验)基本正常。停药后三个月宰杀的重要脏器病理检查, 也未发现与药物有关的病变。

(2) 防₃对狗的慢性毒性: 狗 6 只, 每周给药一次, 每次磷酸喹哌 25 毫克(基质)+周效磺胺 2.5 毫克/公斤, 给药半年, 共 26 次; 另用狗 3 只, 隔周给药一次, 每次剂量与每周给药组相同, 给药亦为半年, 共 14 次。给药期间两组动物均每周测定血清谷-丙转氨酶、硫酸锌浊度试验、血象(白细胞计数及白

细胞分类)及尿常规各一次, 停药后改为隔周检查一次。每周给药组的半数动物(3 只)和隔周给药组的全部动物(3 只), 均于最后一次给药后宰杀, 每周给药组的另 2 只狗于停药 3 个月后宰杀, 对主要脏器进行病理检查。另用空白狗 4 只作对照。实验结果如下:

第一、主要的毒性反应是药物对肝脏的损害。肝功能试验结果表明: 硫酸锌浊度试验均正常; SGPT 活力两给药组均有个别动物(每周给药组有 2 只狗, 隔周给药组有 1 只狗)曾出现一度升高, 并与对照动物有显著差别, 标志着肝组织受到一定程度的损害, 其中每周给药组更为显著, 如 186 号狗在第 19 次给药后曾高达 306.8 单位, 但这种现象在继续给药期间仍可下降至正常值范围内, 而非长期持续存在。肝脏的病理检查发现所有动物均有不同程度的病变; 空白对照组最轻, 肝小叶界限清楚, 肝细胞轻度肿胀, 间质有少量纤维增生。给药组主要为小灶性细胞及纤维增生病变, 分布散在, 范围局限, 间质中的吞噬细胞和枯氏(Küpf er)细胞都吞有大量棕褐色颗粒; 两给药组中以隔周给药组的病变较轻, 每周给药组动物停药三个月后仍有小灶性病变, 但较陈旧, 纤维组织增生较明显。根据病理工作者意见, 这些病变一般还不致发生肝功能障碍。

第二、一般观察: 两给药组各有 1 只狗分别于首次给药后第 13 周和第 16 周起, 表现迟钝, 步态蹒跚, 跳跃时易摔倒, 但呼吸反应正常。这种征候呈阶段性, 或在给药期间或于停药后消失恢复, 无后遗症。

第三、血象检查: 给药过程中均有白血

胞总数和中性白细胞百分比减少现象,均不严重,骨髓象(%)未见抑制现象,说明外周血液中白细胞数的变化,不是骨髓的生成或成熟功能障碍所引起。

第四、其他如肾脏的病理检查与急性实验所见相同,其他脏器的病理检查也未发现与实验有关而又有诊断意义的病变。尿常规亦无明显异常。

(3) 防₃对猴的亚急性、慢性毒性:重点观察防₃对心血管的毒性。猴 2 只,每周给药一次(磷酸喹啉 25 毫克基质+周效磺胺 2.5 毫克/公斤),给药 3 个月共 13 次;另用猴 3 只,隔周给药一次(两药的剂量均为每周给药组的一倍),给药半年共 10 次。给药期间,在每次给药后 4 小时测定血压 2 次,并检查心电图,翌日测定 SGPT 和锌浊度试验。每周给药组有一只猴于停药后第 7 周宰杀,隔周给药组有一只猴于最后一次给药后次日宰杀,对主要脏器进行病理检查。实验结果如下:

肝功能试验均正常,肝脏的病理检查其病变较给药狗轻得多,表现为小灶性纤维组织增生及胆管增生,有炎细胞浸润,肾脏及其他脏器也未发现有诊断意义的病变。血压和心电图检查均未发现异常现象。血象亦有白细胞总数和中性粒细胞百分比的减少现象,且个别猴曾一度显著减少,停药后均逐渐恢复;骨髓象也未见抑制现象。总的印象是防₃对猴的亚急性、慢性毒性较狗为轻。

(4) 模拟防₃现场预防应用的推荐方案
给药对猴肝等主要脏器损害情况的形态学观察:实验用猴 18 只,其中 12 只每隔 30 天给防₃一次,剂量相当于人体预防试用方案(磷酸喹啉 10 毫克基质+周效磺胺 3.3 毫克/公斤),服药半年共 6 次,停药后 24 小时(即末次给药后 24 小时)后宰杀 2 只,停药后 3 周宰杀 3 只,停药后一个月宰杀 3 只,停药后 2 个月宰杀 2 只,停药后 3 个月宰杀 2 只;另用猴 4 只,同法服药 9 个月共 9 次,停药

后第 70 天宰杀 2 只,停药后 5 个月宰杀 2 只;空白对照猴 2 只,分别与停药后 3 周和 5 个月的动物宰杀时一并处死,作为对照。宰杀后取主要脏器进行病理检查,肝脏还进行电子显微镜观察。

病理检查的结果表明:肾、心、脾、肺、脑、肾上腺等脏器均无特殊发现。肝脏的镜检发现服药半年的 12 只猴中,有 10 只猴在部分切片中,肝实质有散在小灶性炎症变化,其中 54 号猴(停药后 3 个月宰杀)较显著,属急性变化;而 2 只对照猴均偶可发现肝实质小灶性炎症变化。此外,服药半年的另 2 只猴及服药 9 个月的全部动物(4 只)肝脏均未发现特殊变化。电子显微镜检查肝细胞一般结构,不论给药猴或对照猴均无特异性病理改变。

鉴于给药猴与对照猴的肝实质均有散在小灶性炎症变化,给药与否没有质的区别,这种程度上的差别可能是个体差异所引起;至于 54 号猴的急性炎性变化,发现于停药后三个月,初步认为似非药物的直接损害所致。

(5) 亚急性、慢性毒性试验的初步结论:
鉴于防₃大量长期、反复应用对肝脏有一定的损害,而肝脏又是药物长期贮存和疟原虫侵袭的主要器官。因此,正确分析、判断药物对肝脏的影响,是正确评价防₃预防应用安全程度的关键问题。我们凭客观存在的事实,详细地占有材料,对实验资料进行认真、过细地分析、讨论,认为按推荐方案进行预防试用(每 30 天服防₃四片),连续预防 6 个月是有安全保证的。主要理由是:

第一、血清谷-丙转氨酶活力升高与肝脏形态变化有一定联系,SGPT 升高标志着肝组织细胞受到一定程度的损害,但其他肝功能试验都属正常,且肝脏的病理变化,一般还不致产生肝功能障碍,看来这种损伤还在肝脏代偿功能范围内。

第二、按照猴在 3 个月至半年内连续服

防₃ 10~13次,总剂量相当于人体服用防₃ 200片和130片,肝脏未出现有诊断价值的病变,肝功能试验也正常。如按人体每月四片计算,相当于连服2.5—4年,推断人体服用6个月应是安全的。

第三、慢性毒性试验狗虽有部分动物出现转氨酶升高,肝脏有轻度病变,但其服用防₃的总剂量相当于人体服用260片和140片,即在半年内服相当于人体连续应用3~5年的剂量。在每次剂量大(人体的2.5倍)、给药间隔短(与人相差2~4倍)、给药期限长(人的7~10倍)的条件下,动物所出现的慢性肝损害还在代偿功能范围内,特别是人体给药间隔时间较长,有利药物排泄,减少药物在肝脏的蓄积。因此,推断人体按推荐方案预防应用6个月是安全的。

第四、完全模拟人体预防应用方案,进行给药的16只猴,其肝脏形态的宏观和微观的检查结果表明,给药动物与对照动物的肝实质变化没有质的区别,进一步说明人体预防应用的推荐方案是安全的。

(三)电子显微镜观察

实验用国产D×A 3-8及D×A 4-10电子显微镜(分辨率为6.99Å),主要研究了防₃在小白鼠、狗、猴等三种动物体内对某些器官的组织细胞(以肝为主)的影响。

1. 小白鼠:实验观察了防₃的推荐剂量(相当于人服4片的剂量)和大剂量(上述剂量的100倍)、单服周效磺胺和空白对照动物的肝、肾、脾、空肠和肾上腺等主要器官的微细变化,观察时间为一次给药后2~3个月内的不同阶段。检查结果是:给防₃的动物所检查的上述器官的细胞内,均可见光学显微镜所不能分辨的一些包含物(图5-6)而正常对照或单服周效磺胺的动物则阴性(图4),大剂量组动物肝细胞内此种包含物甚多,成群,有呈团状,细胞器(如线粒体、内质网等)变化显著,停药后各阶段,包含物逐渐

减少,多集中在毛细胆管周围。细胞器逐渐恢复正常。停药后2周至3个月期间部分肝细胞内均见大量脂肪滴。

推荐剂量组的动物,其肝细胞内包含物甚微,给药一个月后基本消失,两个月时已同正常无异,细胞器无异常(图7-8)。



图4 正常小白鼠肝细胞(放大18,000倍)

Bc(Bile canaliculus 小胆管); M(Mitochondrion 线粒体); N(Nucleus 核); RER(Rough Endoplasmic Reticulum 粗型内质网、动质)

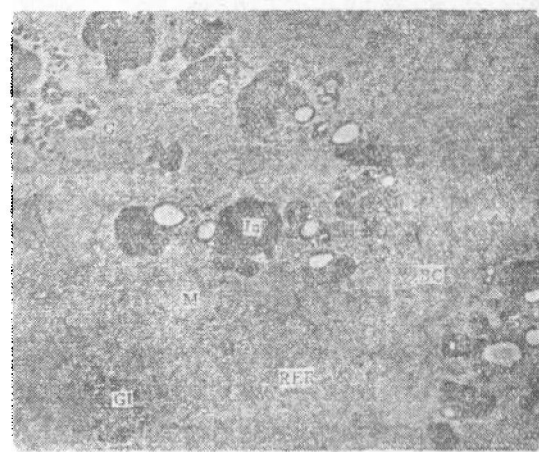


图5 服用一次大剂量后第一天的小白鼠肝细胞(14,000倍)

G(Golgi Complex 高氏体); Gl(Glycogen 糖元); In(Inclusions 包含物)图中其它缩写体同图4

2. 狗:前述慢性毒性实验狗在作病理检查时,同时取材进行电镜检查,检查的器官为肝、肾、心、脾、空肠。其变化与上述

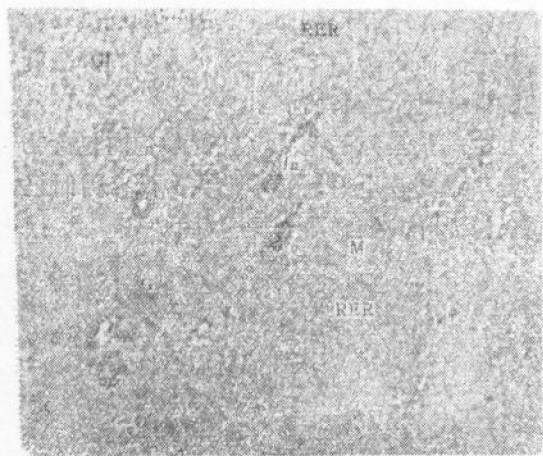


图6 服用一次大剂量后一个月的小白鼠肝细胞(17,000倍)

图中缩写体同图4及5

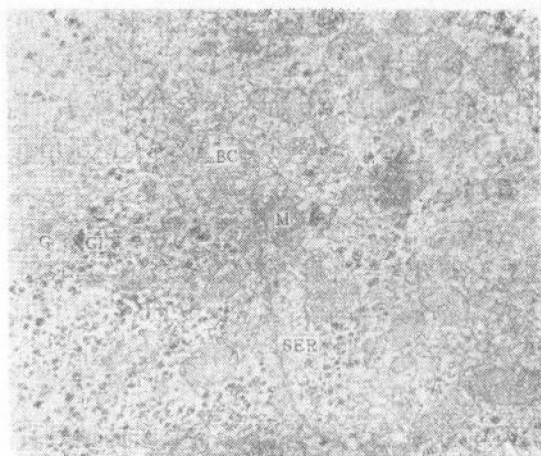


图8 服用一次推荐剂量后一个月的小白鼠肝细胞(13,400倍)

图中缩写体同图4、5及图7

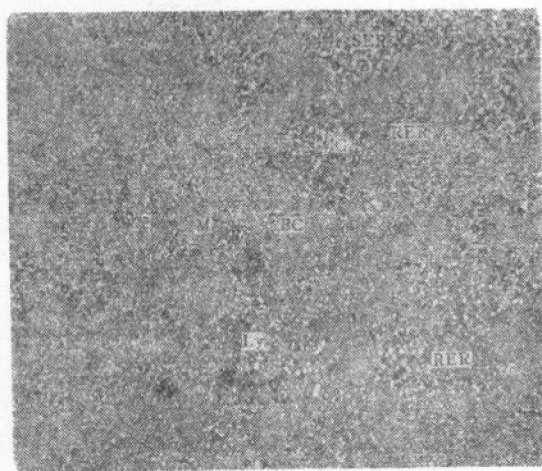


图7 服用一次推荐剂量后第一天的
小白鼠肝细胞(18,000倍)

Ly(Lysosome 溶酶体); SER(Smooth Endoplasmic Ret. 平滑内质网)。图中其它缩写体同图4、5

小白鼠的大剂量组类似。所不同的是：停药后三个月检查的动物，曾见到个别肝细胞全为上述包含物所占，细胞器消失，细胞趋坏死状态。说明长期、大量、反复服用此药，有可能引起部分肝实质细胞长期慢性进行性损害。此外，曾对2只狗的心肌细胞进行了检查，亦能见到上述包含物散布于胞质内线粒体之间，量甚少。心肌细胞无其他特殊变化。

3. 猴：慢性毒性实验猴也在病检时取

材作电镜检查。电镜检查的1只猴为每周灌服相当于推荐剂量2.5倍，连服3个月，共13次；停药后2个月宰杀的另1只猴为隔周灌服加倍剂量、连服半年共10次，停药后立即宰杀的。电镜检查结果：两猴除肝细胞内出现少量与小白鼠和狗肝中所见颇为近似的包含物外，无特殊变化。

另外，对模拟现场预防应用的推荐方案，连服半年的12只猴和连服9个月的4只猴，在停药后5个月内的不同时期宰杀，重点检查肝细胞的变化。检查结果表明：给药猴的

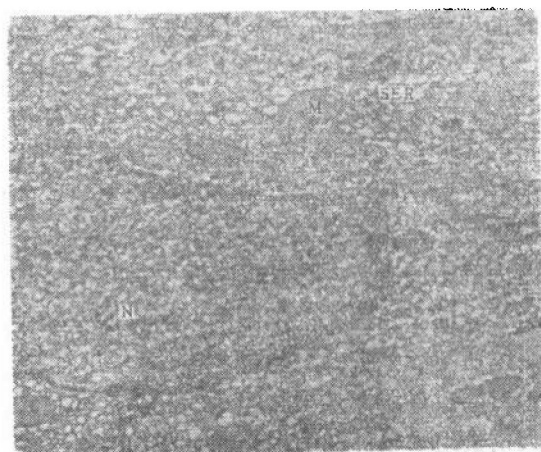


图9 正常猴的肝细胞(14,000倍)

图中缩写体同图4及图7

肝细胞(包括前述有实质性小灶炎症的猴在内)无明显损害。肝细胞内的包含物,其数量多少和存留时间长短与给药的总剂量(包括重复给药的次数)和停药后时间的长短有一定关系,即总剂量愈大(包括重复给药的次数愈多)则包含物愈多,存留的时间也愈久(图9-12)。

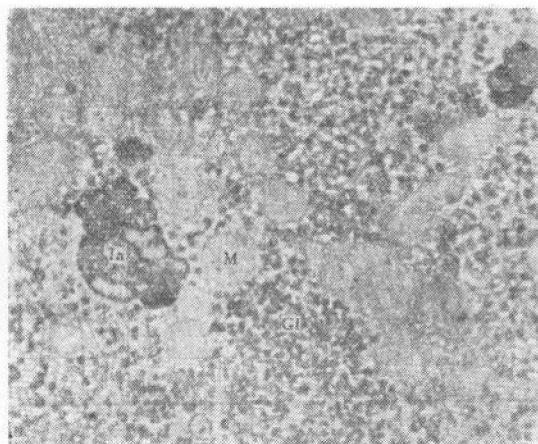


图 10 模拟现场应用的推荐方案,服药半年的猴,停药第一天猴的肝细胞(17,000 倍)

图中缩写体同图 4 及图 5

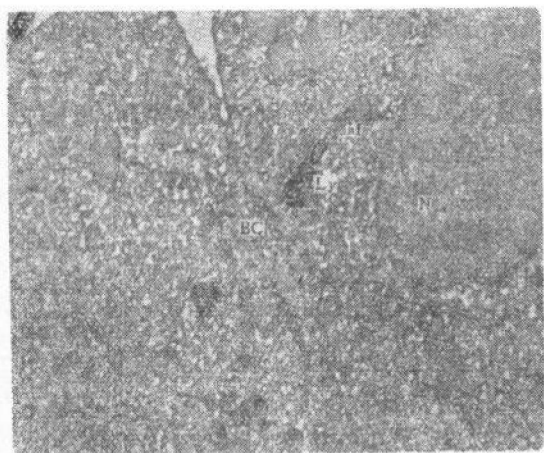


图 11 模拟现场应用的推荐方案,服药半年的猴,停药后一个月的肝细胞(14,000 倍)

图中缩写体同图 4 及图 7

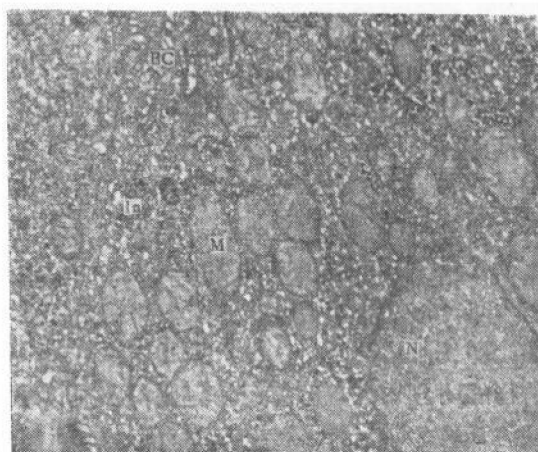


图 12 模拟现场应用的推荐方案,服药半年的猴,停药后三个月猴的肝细胞(17,000 倍)

图中缩写体同图 4 及图 5

4. 初步印象:

(1) 服用防₃的动物脏器组织内,均有光学显微镜所不能分辨的包含物出现,而对照或单服周效磺胺的动物则为阴性。此种包含物的出现显然与喹啉的代谢有关,可能是药物与受损的细胞器或细胞代谢产物结合而成,属于溶酶体一类的结构。此种包含物以肝组织中分布最多,说明肝脏可能是喹啉的主要代谢和贮存器官。肝内药物大部分可能由胆道排除,因包含物在给药后不同时期多集中在毛细胆管周围,偶见于毛细胆管之中。小部分药物则由枯氏细胞代谢。

(2) 相当于人体的推荐剂量(防₃四片)对肝细胞无明显损害,服药后一个月,在肝细胞内所出现的少数包含物,此时已基本消失;大剂量给药动物的肝细胞内,包含物甚多、成群,有呈团块状,细胞器变化显著;大剂量、短间隔、长期给药的动物,曾见个别肝细胞全为包含物所占,细胞器消失,细胞趋坏死状态。说明长期、大量、反复应用防₃有可能引起肝实质的慢性进行性损害,但一般随着停药时间的增长,细胞器可逐渐恢复正常。说明及时停药是防治防₃对肝脏损害的重要措施。