

5-对氟苯氧基伯喹柠檬酸盐溶血反应的实验观察

药理教研室 廖锡麟 祝兰卿 高普恩 胡爱珠 谭世杰

我校药学系新合成的5-对氟苯氧基伯喹柠檬酸盐(MP0090),属8-氨基喹啉类抗疟药。在临床应用中,8-氨基喹啉类抗疟药,常引起急性溶血性贫血。因此,我们用MP-0090对家兔进行试验,并与磷酸伯氨喹啉进行比较,观察其溶血反应。

实验方法

一、动物分组与给药剂量

经过高铁血红蛋白还原试验从健康家兔中挑选6-磷酸葡萄糖脱氢酶活性偏低的家兔,按体重与性别随机分为四组,每组5—6只。除不给药的对照组外,给药组包括MP0090 40mg/kg组、MP0090 60mg/kg组和磷酸伯氨喹啉40mg/kg组。剂量皆按硷基计算。经口给药,每日一次,连续两周。对照组除不给药物外,经受与给药组相同的实验操作。

二、实验观察的指标

为了从多方面检查动物服药后是否发生溶血反应,进行的试验包括血红蛋白测定、高铁血红蛋白测定、血清胆红素测定、网织红细胞计数、红细胞脆性试验和红细胞的还原型谷胱甘肽(GSH)含量测定等。从家兔耳静脉取血样,给药前做两次检查作为对照。给药开始后第一周隔天做一次检查,第二周2~3天做一次检查。

MP0090是本校药学系523合成组供给;磷酸伯氨喹啉是上海第十四制药厂产品,批号703433;试验中所用的还原型谷胱甘肽是上海酵母厂出品(生化试剂),批号770907。

实验结果

一、一般观察与家兔死亡情况

家兔服药后食量普遍减少,伯喹组出现最早(给药第3天),亦最明显,部分家兔有拒食现象;MP0090组出现较迟(给药5~6天后)。三个给药组家兔均有死亡。伯喹组于给药第8天死亡三只,第9天死亡一只,第15天死亡一只(共计5/6);MP0090小剂量组于给药第13天死亡一只(1/5);MP0090大剂量组于给药第9天死亡一只,第10天死亡三只,第13天死亡二只(共计6/6)。

二、血红蛋白与高铁血红蛋白测定

MP0090组家兔,无论服40mg/kg或60mg/kg,对血红蛋白含量无明显影响,与对照组情况相似。伯喹组(40mg/kg)家兔于给药第2、4、6天,血红蛋白含量持续降低,第6天平均降低36%(图1)。

家兔连续口服MP0090后,无论小剂量组或大剂量组,直至死亡前未见高铁血红蛋白量有增高趋势,与对照组基本相同。伯喹组部分家兔于给药第4天以后,高铁血红蛋白量较服药前明显升高,如从服药前的0增高至14%,或从服药前的2%增高至9.3%,有的家兔随即死亡,有的逐渐回降至接近服药前水平。个别家兔的高铁血红蛋白量一直未见增高。

三、网织红细胞计数

伯喹组家兔服药第2天就见网织红细胞计数升高,服药第6~8天达高峰;活存的家兔,其网织红细胞计数逐渐回降。MP0090

组家兔，服药后网织红细胞计数亦见升高，升高的程度远较伯喹组为小(图 2)。

四、血清胆红素测定

包括血清一分钟胆红素和总胆红素，采用光电比色测定法。给药前全部家兔均未测

出血清胆红素。口服 MP0090 的家兔，仅小剂量组中有两只于服药第 8 和第 11 天的测定中测出微量胆红素，伯喹组家兔有三只于服药第 4 天即见胆红素增加，另三只分别于服药第 8 和 11 天见胆红素增加。

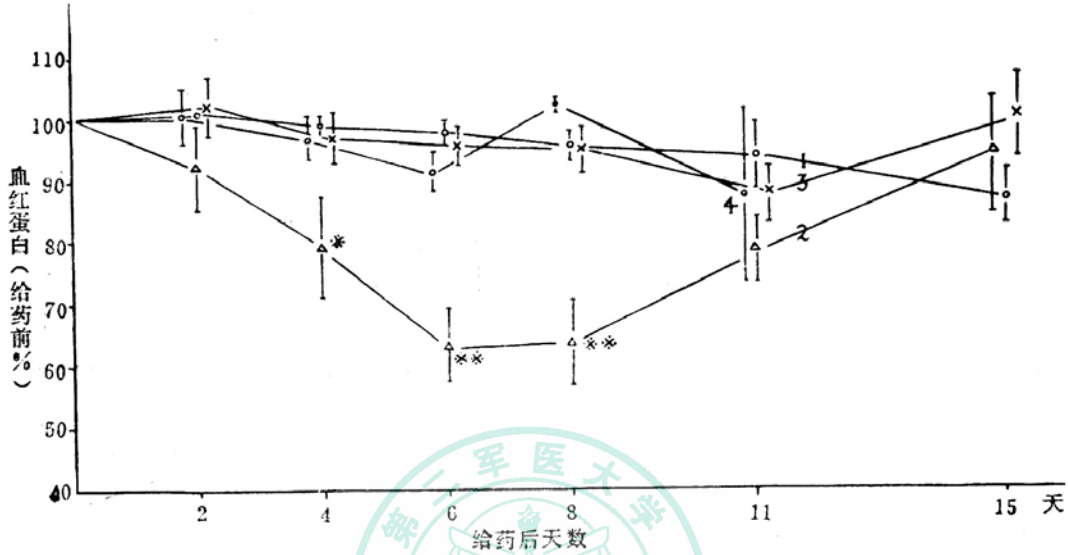


图 1 伯喹、MP0090 对家兔血红蛋白含量的影响

- 1. 对照组 2. 伯喹组 3. MP0090 小剂量组 4. MP0090 大剂量组
- * 自身比较、与其他三组组间比较; $P < 0.05$
- ** 自身比较、与其他三组组间比较; $P < 0.01$

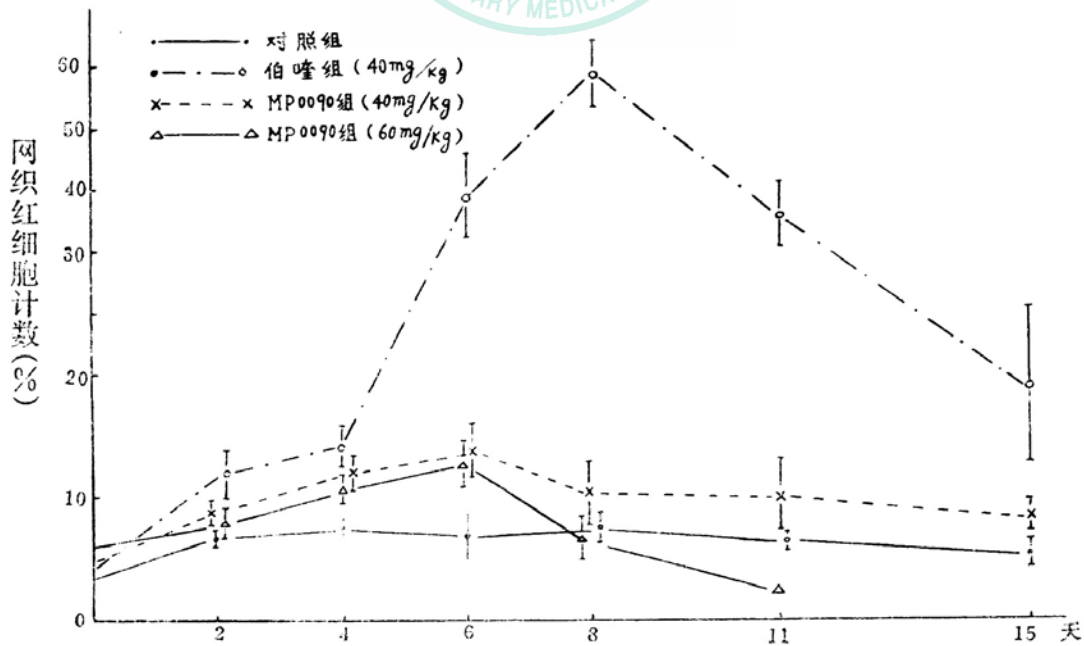


图 2 家兔用药后网织红细胞计数的变化

五、红细胞脆性试验

各组家兔在给药前后红细胞脆性的变化如图 3、4 所示。图内数值是给药后不同时

间与给药前红细胞溶解（开始溶解或完全溶解）时氯化钠溶液浓度(mg%)的增减值均数（即给药前后浓度差值的平均数）。伯喹组红

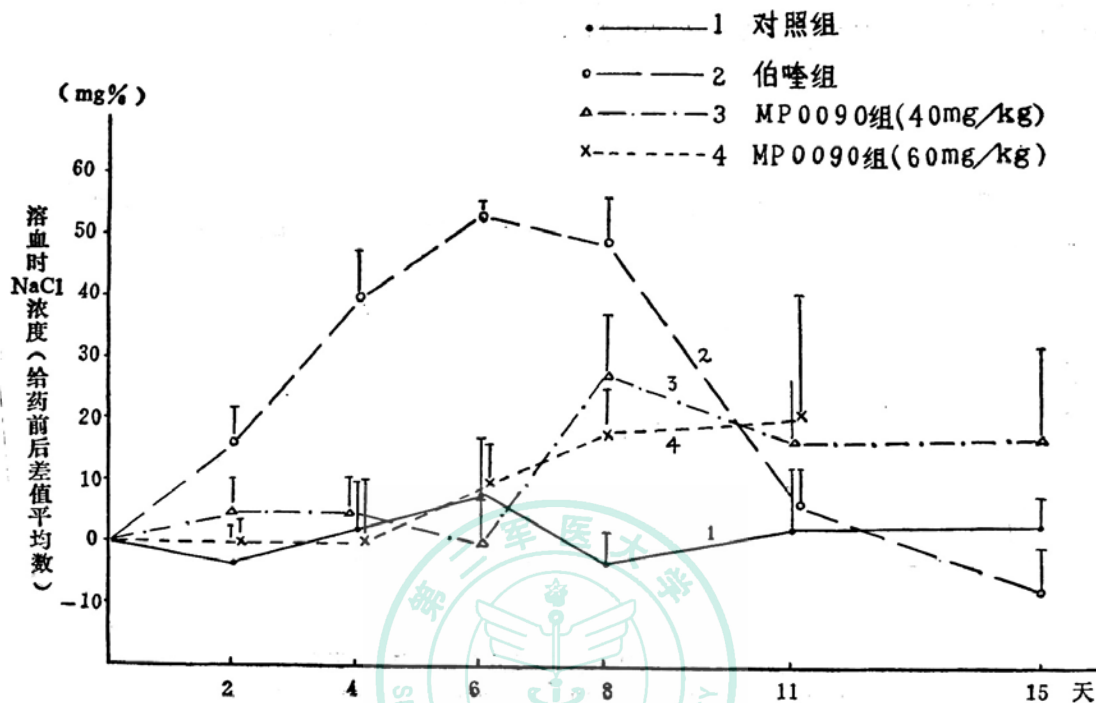


图 3 红细胞脆性试验(开始溶血)

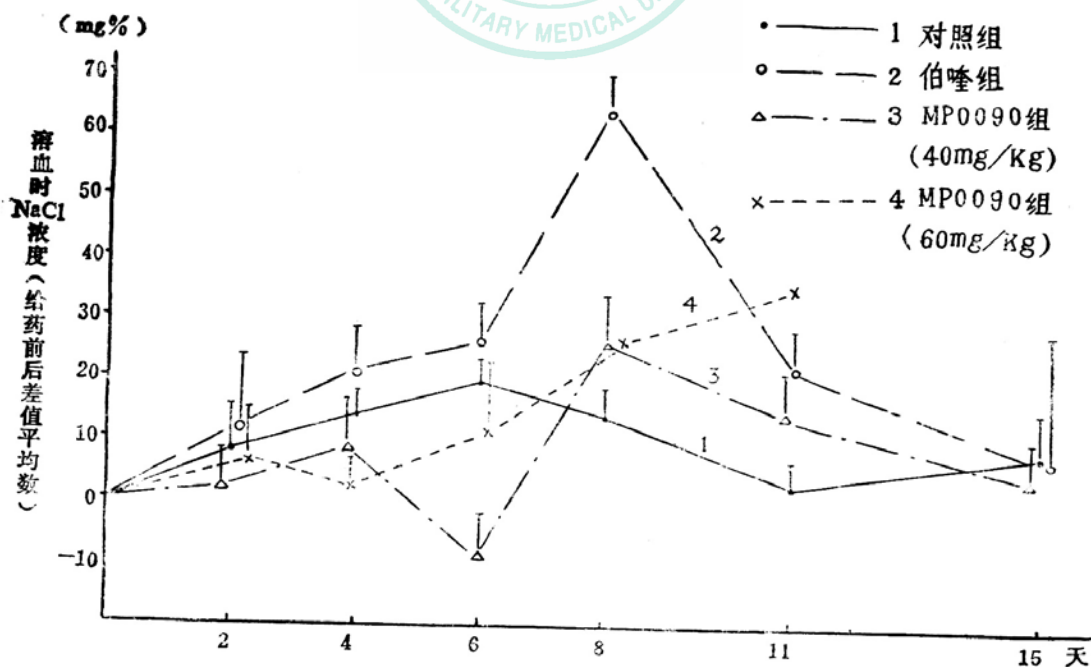


图 4 红细胞脆性试验(完全溶血)

细胞脆性于用药第2天即开始增加,在用药的第6、8天尤为明显。MP0090组从用药的第8天起,红细胞脆性亦较对照组为高,但没有伯喹组明显。

六、红细胞中还原型谷胱甘肽(GSH)的测定

从抗凝血样中取定量的红细胞,经生理盐水洗涤后,加蒸馏水溶血,用偏磷酸与氯化钠分离和沉淀蛋白质,于澄明血滤液中加入由氰化钠与碳酸钠组成的稳定剂后,其中GSH与亚硝基铁氰化钠试剂产生玫瑰红色复合物,在1分钟内用520m μ 波长分光光

度计比色。各组家兔于给药前与给药后不同时间的血样测定结果列于表1。MP0090小剂量组于给药的第11天,红细胞中GSH含量显著降低($P < 0.05$);MP0090大剂量组于给药第8天,降低非常显著($P < 0.001$)。伯喹组家兔红细胞中GSH降低发生较早,在用药第4、6和8天的测定中,GSH含量值较之给药前有非常显著的差别($P < 0.01$),服药8天后仍然活存的家兔,其红细胞GSH含量有逐渐恢复至给药前水平的趋势。MP0090小剂量组家兔红细胞中GSH含量于用药的第4、6和8天亦显著高于伯喹组($P < 0.01$)。

表1 各组家兔红细胞还原型胱甘肽(GSH)的含量(均值mg% \pm 标准误)

组别	给药前	给药后(天)				
		4	6	8	11	15
对照组	66.9 \pm 4.7(5)	53.5 \pm 2.3(5)	70.0 \pm 5.6(5)	61.3 \pm 1.6(5)	66.6 \pm 3.0(5)	58.1 \pm 1.2(5)
伯氨喹啉组(40mg/kg)	64.8 \pm 2.7(6)	33.5 \pm 3.5(5)**	33.5 \pm 2.9(6)***	34.2 \pm 5.3(5)**	53.5 \pm 11.5(2)	58.8 \pm 20.0(2)
MP0090小剂量组(40mg/kg)	62.0 \pm 5.3(5)	58.7 \pm 3.8(5) $\Delta\Delta$	58.0 \pm 5.8(5) $\Delta\Delta$	58.7 \pm 2.7(4) $\Delta\Delta$	39.6 \pm 2.6(5)*	43.0 \pm 2.8(4)
MP0090大剂量组(60mg/kg)	66.2 \pm 3.5(6)	51.5 \pm 5.0(6)	62.3 \pm 4.1(6)	36.4 \pm 5.4(6)***	35.7 \pm 3.6(2)	—

括号内数字是测定的样本数

* ** *** 表示与用药前比较,分别为 $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$

$\Delta\Delta$ 表示MP0090小剂量组与伯喹组比较 $P < 0.001$

讨 论

MP0090和伯喹以相同剂量(硷基40mg/kg)给家兔连续口服14天,家兔死亡数分别为1/5与5/6。MP0090的剂量增至60mg/kg,死亡6/6。根据这一结果,尚难作出MP0090比伯喹毒性小的结论。

伯喹组家兔。在测定的几项和溶血有关的指标中,全部表现出阳性变化,这些变化的高峰多数出现于临近死亡之前。活存的家兔,多数指标渐呈恢复趋势。MP0090组家兔,即使临近死亡之前,仅部分指标有阳性变化,且变化的程度较伯喹组为轻。MP0090 40mg/kg和60mg/kg两组家兔的死亡数分别是1/5和6/6,这是个有统计学意义的

差别,显示出剂量与反应的关系;但在观察的部分溶血指标中,这种关系并不明显。如网织细胞计数,小剂量组比大剂量组升高更多;血清胆红素测定中,仅小剂量组有两只家兔出现阳性等。这种现象的发生固然可部分归因于动物的差异性,亦可能说明溶血反应并非MP0090的特征性毒理作用,也不是造成家兔死亡的直接或主要的原因。MP0090与伯喹虽同属8-氨基喹啉类,但由于结构上的特点(如5-对氟苯氧基的引入或其他),除可能减弱其溶血反应外,还有可能改变其药(毒)理作用的靶部位以及药代动力学过程,从而具有与伯喹不同的某些特点,所有这些都还有待进一步阐明。

还原型谷胱甘肽(GSH)是红细胞还原系

统中的一个重要成分,对保持红细胞的正常功能和红细胞膜的稳定性至关重要。伯喹型溶血性贫血的发生,多见于红细胞内6-磷酸葡萄糖脱氢酶(G6PD)有质和量缺陷的个体^[3]。G6PD正常的个体,当伯喹大剂量应用时,或在动物实验中应用大剂量伯喹时,由于超越机体的生化代偿机制,红细胞的GSH相应地缺少,即可导致溶血性贫血。引起溶血性贫血的基本原因是伯喹的中间代谢产物具有较强的氧化性能,使GSH大量氧化为GSSG,因此红细胞内GSH含量下降,从而使红细胞膜的稳定性遭到破坏,加上变性蛋白小体的形成使红细胞不易通过脾窦而被脾脏破坏,发生溶血^[3-4]。我们在本实验中试用红细胞的GSH含量测定作为评价伯喹型溶血性贫血的指标之一。根据实验结果,初步认为这项指标颇为敏感,值得提倡采用。但由于缺乏经验,尚有待进一步探讨。

结 论

在家兔的实验中选用血红蛋白、高铁血红蛋白、网织红细胞计数、血清胆红素、红细胞脆性试验、红细胞中还原型谷胱甘肽含量等项指标对新合成8-氨基喹啉类抗疟药MP0090的溶血反应进行了评价,并与伯喹作比较。研究结果表明MP0090的溶血反应明显地较伯喹为轻。研究结果也提示MP0090引起的轻度溶血反应非引起家兔死亡的主要原因。

参 考 文 献

1. 福州部队总医院: 临床医学检验, 第86页, 1977.
2. Jocelyn PC: An Assay for Glutathione in Acid Solution. *Analytical Biochem* 18: 493, 1967
3. Dipalma JR (Ed): *Drill's Pharmacology in Medicine*. 4th ed, pp 1780-1781, McGraw-Hill Inc. London 1971.
4. 第二军医大学: 临床血液病讲义, 第二册, 77-79页, 1977.

(上接25页)

- 8-aminoquinolines. In: Wiselogle F Y ed, *Survey of antimalarial drugs, 1941-1945*, 1: 106, 1946.
6. Weniger H: Toxicity and side effects of primaquine and other 8-aminoquinolines. WHO/MAL 79. 905, 1979.
7. 廖锡麟等: 5-对氟苯氧基伯喹柠檬酸盐溶血反应

的实验观察, 本期14页。

8. Beutler E et al: The hemolytic effect of primaquine VII. Biochemical studies of drug-sensitive erythrocytes. *J Lab clin Med* 45: 286, 1955.
9. Brodie et al: Metabolites of pamaquine in urine. *Proc soc exper Biol Med* 74:845, 1950.