

疟疾防治药物的研究

IV. 5-对氟苯氧基伯喹柠檬酸盐抗疟作用的实验观察

寄生虫学教研室 陈 林 戴祖瑞 李裕棠 马志明

自五十年代初期磷酸伯氨喹开始用于治疗疟疾以来,至今仍是唯一有效的根治药,但由于其疗程过长、毒性较大,不适于防治的需要。为此,一直在改造它的化学结构,以寻求高效低毒的根治新药。Chen等(1977)^[1]报告用5-对氟苯氧基-6-甲氧基-8-(1-甲基-4-氨基丁基)氨基喹啉0.5mg/kg×8天对食蟹猴疟原虫(*Plasmodium cynomolgi*)孢子感染的猴疟进行根治试验,5只试验猴全部治愈。许德余等(1979)^[2]根据Chen等和Tanabe等的报道合成了同一结构的化合物(代号MP0090),由我们进行了病因性预防筛选和根治实验疗效观察,现将结果报告于后。

材 料 与 方 法

一、病因性预防筛选方法

应用约氏鼠疟原虫(*P. yoelii*)——斯氏按蚊系统和食蟹猴疟原虫——斯氏按蚊系统进行常规筛选。分别从斯氏按蚊的涎腺解剖得约氏鼠疟原虫孢子,定量经腹腔感染健康小鼠(昆明株)或食蟹猴疟原虫孢子定量经静脉感染恒河猴(*Macaca mulatta*)。预防鼠疟为在孢子感染小鼠1/2至1小时内灌药,连续3天,疗效考核方法见我们过去的报告^[3]。并将14天血检阴性的小鼠各取心脏血液0.5~1ml,以3.8%枸橼酸钠抗凝,混合后经腹腔转种给健康小鼠,过1周及2周后再血检有无原虫,预防猴疟为接种孢子2天后灌药,连续5天。疗效考核方法,为接种孢子后第4~20天,每天血检一次,第21

~30天隔天血检一次,以后每周血检二次。每次血检均制作厚、薄片,每张厚片查25个视野,薄片查100个视野(相当于4万个红细胞),观察有无原虫。另用小鼠、恒河猴给服伯喹或乙胺嘧啶作对照。

二、根治筛选方法

参照Schmidt等(1977)^[4]介绍的方法,以食蟹猴疟原虫孢子经静脉感染健康恒河猴后,待其原虫密度达到4~5%时,每天用胃管灌药,连续5天,氯喹或与MP0090并用,或在MP0090的疗程结束后使用;前者氯喹20mg(基质)/kg/天连服3天,后者氯喹5mg(基质)/kg/天连服7天。灌完药后,定期血检疟原虫,至给药后105天仍为阴性者,选择其中2只猴切脾再继续血检30天。以判定根治效果。根治筛选时,每次均设伯喹并用氯喹的对照组和单用氯喹对照。

结 果

一、MP0090对食蟹猴疟原虫的根治结果

结果(表1)说明MP0090对食蟹猴疟原虫的根治作用与伯喹基本相同,二药用1.25mg(基质)/kg×5天同时加氯喹20mg(基质)/kg×3天,均能达到根治作用,或较后者稍好,因为用MP0090 0.625mg(基质)/kg×3天加氯喹组,给药后105天内血检3只猴均为阴性;而伯喹0.625mg(基质)/kg×5天加氯喹组给药105天内血检3只猴中只有1只阴性,而其余2只均于给药后69~88天内出现原虫血症。实验并表明,如单用MP0090

注:本文曾在上海市寄生虫学会1979年年会上宣读。

对食蟹猴疟原虫进行根治，即使剂量为5mg(基质)/kg×5天，3只猴均于给药后28天出现了原虫血症，但如同时合并使用氯喹或根治后再加氯喹者则都能达到根治作用。为此，我们认为：用此药和伯喹一样，均需伍用氯喹，方能有根治效果。

表 1 MP0090 与伯喹对食蟹猴疟原虫根治作用的比较

组 别	药 物 剂 量 mg(基质)/kg/天 ×5天	给 药 后 105 天 内 血 检 阴 性 猴 数 / 猴 数
单用 MP0090	5.0	0/3
MP0090 并用氯喹	2.5	2/2
	1.25	2/2
	0.625	3/3
	0.3125	1/2
	0.1512	0/2
MP0090 根治后再 给氯喹	3.0	2/2
	2.5	1/1
	1.25	3/3
伯喹并用氯喹	1.25	3/3
	0.625	1/3
	0.3125	1/2
	0.1512	1/2
	0.1512	0/1

注： 1. 单用 MP0090 5mg(基质)/kg×5天，3只猴均于给药后28天出现原虫血症。
2. 伯喹 1.25mg(基质)/kg×5天，2只阴性猴经切脾后30天内血检，亦均为阴性。
3. 伯喹0.625mg(基质)/kg×5天同时并用氯喹。20mg(基质)/kg×3天，3只猴中2只猴于给药后69~88天出现原虫血症。
4. 单用氯喹 20mg(基质)/kg×3天，3只猴均于21~33天出现原虫血症。

二、MP0090 对约氏鼠疟原虫的病因性预防作用

分为5个剂量组，每组5只小鼠，有的组由于药物剂量较大而出现毒性反应，故在感染后第7和14天血检时，动物数少于5只，个别组因全部死亡，无法采血作转种试验。

初步结果(表2)表明MP0090对约氏鼠疟原虫的病因性预防作用，剂量为40mg(基质)/kg×3天时，可有全保护作用，而伯喹虽在20mg(基质)/kg×3天时，也有全保护作用；但伯喹毒性较大，在20mg(基质)/kg×3天以上的3个组，至7天，每组各死亡2只，至8

天全部死亡。而低于10mg(基质)/kg×3天的两个组，虽能全部存活，但预防效果差。

表 2 MP0090 与伯喹对约氏鼠疟原虫病因性预防作用比较

药物 剂量 mg (基质) /kg/天 ×3天	MP0090 组				伯 喹 组			
	实验 动物 数	D ₇	D ₁₄	转种后 血检	实验 动物 数	D ₇	D ₁₄	转种后 血检
		阴性动 物数/ 血检动 物数	阴性动 物数/ 血检动 物数	阴性动 物数/ 血检动 物数		阴性动 物数/ 血检动 物数	阴性动 物数/ 血检动 物数	阴性动 物数/ 血检动 物数
80.0	5	5/5	4/4	3/3	5	3/3	—	—
40.0	5	5/5	4/4	3/3	5	3/3	—	—
20.0	5	1/5	1/5	0/1	5	3/3	—	—
10.0	5	0/5	0	0	5	4/5	3/4	3/3
5.0	0	0	0	0	5	1/5	1/5	0

注： 1. 转种为将14天血检阴性组小鼠自心脏取血混合接种于健康小鼠，过1周及2周后再血检的结果。
2. 空白对照组7天及14天血检10只小鼠均出现原虫血症。

三、MP0090 对食蟹猴疟原虫的病因性预防作用：

用食蟹猴疟原虫—斯氏按数系统进行实验，结果说明：MP0090对食蟹猴疟原虫有一定病因性预防作用，当剂量为3.0mg(基质)/kg×5天时，3只猴中仅有1只猴于给药后28天出现原虫血症，其余2只猴均得到保护，而空白对照组于孢子接种后，3只猴8~10天均出现原虫血症。但用乙胺嘧啶2.5mg(基质)kg×8天的2只猴，给药后105天内血检均为阴性。

讨 论

近年来，国内外在合成疟疾根治新药方面经过大量筛选，证明某些伯喹衍生物疗效与伯喹相似，而毒性较伯喹为低，例如Chen等(1977)^[1]和Tanabe等(1978)^[5]报道了一些5-取代伯喹衍生物的毒性明显低于伯喹，其中，个别化合物的抗疟作用似较伯喹为优。1979年Carrol又报告^[6]了，4-乙基伯喹的疗效与伯喹相当而毒性较低。张家坝等(1980)

报告根治疟疾新药 M-7844(5-对氟苯氧基伯喹)用猴疟模型进行试验,以 3mg(基质)/kg×6 天时,2 只受试猴中,1 只猴在第 49 天死亡,另 1 只观察了 90 天,在观察期间 2 只猴均未出现原虫血症,其根治效果与服磷酸伯喹 3mg(基质)/kg×6 天的 2 只猴,结果相似。

我们以 MP0090 对约氏鼠疟原虫进行试验,表明其有一定病因性预防作用(表 2),经食蟹猴疟原虫-斯氏按蚊系统复筛,当剂量为 3.0mg(基质)/kg×5 天时,3 只猴中有 2 只得到保护,效果不够理想。我们参照 Schmidt 等(1977)^[4]介绍的方法,对食蟹猴疟原虫进行根治试验(表 1),结果说明,当剂量为 0.625mg(基质)/kg×5 天,加氯喹 20mg(基质)/kg×3 天时,MP0090 组 3 只猴均得到根治,而相同剂量的伯喹组,3 只猴中,2 只猴未能得到根治,90 天内出现了原虫血症,这一结果较 Chen 等(1977)^[1]效果稍好;当 MP0090 剂量为 0.625mg(基质)/kg×5 天以上各剂量组(至 2.5mg(基质)/kg×5 天组)、只要同时伍用氯喹 20mg(基质)/kg×3 天(杀血液内裂殖体,下同)或用 M-P0090 根治后再用氯喹 5mg(基质)/kg×7 天均能达到根治作用。我们的实验,当伯喹总剂量为 3.125mg(基质)/kg 时,3 只猴中 2 只未能得到根治,而 Schmidt 等(1977)^[4]报告,当伯喹总剂量为 2.625mg(基质)/kg 时,13 只猴全部得到根治,结果所有不同。总的来说,MP0090 具有较好的根治作用和一定的病因性预防作用。至于毒性,沈念慈等(1979)报告^[7],小鼠一次灌胃,MP0090 7 天的 LD₅₀±平均可信限(P=0.95)为 418.8±37.9mg(碱基)/kg,而磷酸伯喹观察 5 天的结果为 64.5±13.2mg/kg,相差 6.5 倍,而张家坝等报告, M-7844 一次灌胃,观察 3 天, LD₅₀ 为 1749±308.8mg/kg,磷酸伯喹的 LD₅₀ 为 63.83±8.2mg/kg, MP0090 和 M-7844 小鼠急性毒性相差 4 倍以

上,而磷酸伯喹小鼠急性毒性却又十分相同。沈念慈等(1979)报告^[7],对家犬灌服 MP0090 1.25mg/kg×15 天,3 条犬均未死亡。而灌服相同剂量的伯喹组,5 条犬中有 1 条在实验的第 12 天死亡。廖锡麟等^[8]报告, M-P0090 对家兔,即使临近死亡之前,溶血反应仅部分指标出现阳性变化,且变化的程度均较伯喹组为轻,因而认为 MP0090 引起的轻度溶血反应并非导致家兔死亡的直接或主要原因。何德华等(1979)报告^[9],根据 MP0090 和伯喹的亚急性毒性试验的病理形态学观察,认为药物对心肌的损害,可能是引起动物死亡的主要原因,但证明相同剂量的 M-P0090 对心肌的毒性较伯喹为低。结合疗效和毒性,显示 MP0090 在食蟹猴疟原虫模型上的根治效果与伯喹相似或较好,而毒性较伯喹为低,值得进一步深入研究。

(此项研究承龚建章教授指导,特此致谢)。

参 考 文 献

1. Chen EH, et al: Modifications of primaquine as antimalarials, 1,5-phenoxy derivatives of primaquine. J Med Chem 20 (8): 1107-1109, 1977.
2. 许德余等: 合成抗疟药研究 V. 5-对氟苯氧基伯喹柠檬酸盐 (MP 0090) 的合成。本期 8 页。
3. 陈林等: 疟疾病因性预防药物筛选试验动物模型的研究 1. 约氏鼠疟原虫-斯氏按蚊系统。待发表。
4. Schmidt LH, et al: Radical cure of infections with *Plasmodium cynomolgi*: A function of total 8-aminoquinoline dose. Am J Trop Med Hyg 26 (6): 1116-1128, 1977.
5. Tanabe K, et al: Modifications of primaquine as antimalarials, 2,5-phenylthio and 5-anilino derivatives of primaquine. J Med Chem 21 (1): 133-136, 1978.
6. Carrol FI, et al: Synthesis of some 4-substituted 8-amino-6-methoxy quinoline as potential antimalarials. J Med Chem 22 (6): 694-699, 1979.
7. 沈念慈等: 5-对氟苯氧基伯喹柠檬酸盐的急性亚急性毒性观察。本期 19 页。
8. 廖锡麟等: 5-对氟苯氧基伯喹柠檬酸盐与伯喹溶血反应的实验观察。本期 14 页。
9. 何德华等: 5-对氟苯氧基伯喹柠檬酸盐亚急性毒性试验的病理形态学观察。本期 26 页。