

甲氧苄啶及其盐类的抗疟作用

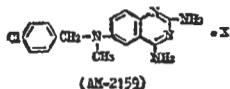
戴祖瑞 李裕棠 陈林 龚建章 (第二军医大学寄生虫学教研室, 上海 201903)

李广云 陈根娣 沈德福 忻志铭 张秀平 (上海医药工业研究院, 上海 201903)

提要 甲氧苄啶及其多种盐对约氏鼠疟原虫有病因性预防作用, 对伯氏鼠疟原虫有抑制性作用, 其盐酸盐(Am-2160)对正常株和抗氯喹株伯氏鼠疟原虫的ED₅₀分别为 8.7±2.5 mg/kg×3 d 和 4.1±1.0 mg/kg×3 d. 对食蟹猴疟原虫有病因性预防作用, 但效果较差. 对小鼠及犬的毒性较大. 因此未再予以深入研究.

关键词 甲氧苄啶及其盐类; 伯氏鼠疟原虫正常株和抗氯喹株; 抑制性疗效; 约氏鼠疟原虫; 病因性预防作用; 食蟹猴疟原虫; 根治作用

硝喹(CI-679)具有较好的抗疟效果⁽¹⁾并有阻断孢子增殖的作用^(2,3). 我们对硝喹进行结构改造, 合成了一系列衍生物, 发现甲氧苄啶及其盐对鼠疟有较好的作用. 为此, 对猴疟进行了病因性预防和根治作用的观察. 甲氧苄啶(Am-2159)化学名为 2,4-二氨基-6-[4-氯代苄基]-N-甲基-氨基]喹唑啉, 其结构式为:



- X = hydrochloric acid (Am-2160)
- X = 1/2 pamoic acid (Am-2164)
- X = acetic acid (Am-2165)
- X = phosphoric acid (Am-2166)
- X = ascorbic acid (Am-2220)

方法和结果

药物 甲氧苄啶及其盐用 10% Tween-80 制成所需要浓度的悬液, 药物剂量均按基质计算.

疗效

1. 约氏鼠疟原虫的病因性预防试验 用约氏鼠疟原虫(*Plasmodium yoelii*)——斯氏按蚊(*Anopheles stephensi*)系统进行试验, 按常规将阳性斯氏按蚊研磨制成孢子接种液, 每鼠 ip 0.2 ml, 相当于每鼠接种 1 只阳性蚊. 接种后 1/2-1 h 开始 ig 给药. 第 7 d 及第 14 d 分别取尾血涂制薄血膜, 吉氏染色, 计数 10⁸ 个 RBC 中所含的疟原虫, 如未查见疟原虫则为阴性, 结果见表 1. Am-2159 及其几种盐, 当剂量为 1.25 mg/kg×3 d 时接种后 14 d 血检, 全部试验鼠均为阴性; 当剂量降至 0.16 mg/kg×3 d 时, 除 Am-2159 外, 其他各盐血检仍全部阴性, 然后再以此血液转种健康小鼠亦为阴性, 说明具有一定的预防作用.

正常小鼠 ig Am-2159 或 Am-2160 20 mg/kg×3 d 后, 15 d 用孢子攻击, 结果有 50% 的小鼠获得感染, 30 d 用孢子攻击时, 则所

Table 1. Prophylactic action of Am-2159 and its salts against *P. yoelii*

mg(base)/kg × days	Number of negative mice/Number of infected mice						Control
	Am-2159	Am-2160	Am-2165	Am-2166	Am-2164	Am-2220	
2.5 × 3	10/10	10/10	5/5	—	5/5	5/5	
1.25 × 3	10/10	10/10	5/5	5/5	—	5/5	
0.16 × 3	8/10	10/10	5/5	5/5	5/5	5/5	
0.08 × 3	6/10	9/10	5/5	5/5	5/5	5/5	
0.00							0/20

有小鼠均获得感染,说明药物在小鼠体内持效时间不长。

2. 伯氏鼠疟原虫的抑制性治疗试验

2.1 抑制试验 用伯氏鼠疟原虫(*P. berghei*)正常株和抗氯喹株每鼠分别输血转种 500 万个被寄生的 RBC,接种后第 1 d(接种当天为 d_0)开始 ig 给药, qd × 3 d, 每组 10 只小鼠。接种后第 5 d 取尾血检查、计数,得出平均抑制率,其结果见表 2。Am-2159 和 Am-2160 10 mg/kg × 3 d 的抑制率分别为 99.64% 和 94.38%,而硝喹 1 mg/kg × 3 d 抑制率为 100%。Am-2160 对该原虫正常株和抗氯喹株的 ED_{50} 分别为 8.7 ± 2.5 mg/kg × 3 d 和 4.1 ± 1.0 mg/kg × 3 d, 氯喹对正常株的 ED_{50} 为 2.7 ± 1.4 mg/kg × 3 d 而对抗氯喹株的 ED_{50} 不能测出。硝喹对正常株和抗氯喹株的 ED_{50} 分别为 0.9 ± 0.1 mg/kg × 3 d 和 0.7 ± 0.1 mg/kg × 3 d⁽⁴⁾。

2.2 治疗试验 原虫接种方法同前,待小鼠血内原虫密度上升到 5% 以上时开始给药, qd × 3 d 然后逐日血检。连续 2 d 血检均为阴性

者,则定为转阴,以此算出各组平均原虫转阴时间,并对转阴小鼠追踪观察,算出平均原虫复燃时间,每组 10 只小鼠。结果 Am-2160 在剂量 20 mg/kg × 3 d 时,伯氏鼠疟原虫的正常株和抗氯喹株均在 3 d 内全部转阴,但至 11 d 时,血内又出现了原虫。氯喹在同样剂量下,对正常株原虫也能转阴,但 2 d 复燃,对抗氯喹株原虫即使在 100 mg/kg × 3 d 也始终不能转阴。硝喹 2 mg/kg × 3 d 时对正常株和抗氯喹株在 48 h 内全部转阴,8—10 d 复燃,但剂量增大到 5 mg/kg × 3 d 时,未见原虫复燃,故 Am-2160 对伯氏鼠疟原虫正常株及抗氯喹株的治疗效果稍优于氯喹,而较硝喹为差⁽⁴⁾。

2.3 食蟹猴疟原虫(*P. cynomolgi*)病理性预防试验 用食蟹猴疟原虫——斯氏按蚊系统进行试验,子孢子接种液的制备方法同上。子孢子 iv 接种后 1/2-1 h ig 给药(qd × 5 d 或 8 d),并分别设乙胺嘧啶组和伯喹组作平行对照,根据 Schmidt 等⁽⁵⁾评价有效标准的方法,血检观察至 105 d,如在此时间内实验组猴未出现原虫血症,则认为有效,其结果见表 3。

Table 2. Suppression rate (%) of Am-2159 and Am-2160 against normal strain of *P. berghei*. 5 mice/group. Control group parasite rate $392 \pm (SD) 172\%$

mg(base)/kg × days	Am-2159		Am-2160	
	Parasite rate(%)	Suppression rate(%)	Parasite rate(%)	Suppression rate(%)
10.00 × 3	1.4 ± 2.1	99.6	22 ± 44	94.4
5.00 × 3	86 ± 57	77.9	105 ± 70	73.2
2.50 × 3	188 ± 94	51.9	162 ± 68	58.7
1.25 × 3	411 ± 51	0.0	236 ± 39	39.8

Table 3. Prophylactic action of Am-2160 against *P. cynomolgi*

Dose of sporozoite-inoculum ($\times 10^{-3}$)	Drug	mg(base)/kg \times days	Negative monkeys	Dosed monkeys	Day of parasitemia- appearance after inoculation
767	Am-2160	5 \times 8	2 /	2	105(-)
120	Am-2160	2.5 \times 8	1 /	2	25(+)
391	Am-2160	2.5 \times 8	0 /	2	33,56(+)
8069	Am-2160	2.5 \times 5	0 /	1	21(+)
391	pyrimethamine	2.5 \times 5	2 /	2	105(-)
622	pyrimethamine	2.5 \times 8	2 /	2	105(-)
622	primaquine	2.5 \times 8	2 /	2	105(-)
120	control	—	0 /	3	9(+)
391	control	—	0 /	3	9(+)
622	control	—	0 /	3	9(+)
8069	control	—	0 /	2	9(+)

在 5 mg/kg \times 8 d 时, Am-2160 对食蟹猴疟原虫有病因性预防作用,而在 2.5 mg/kg \times 8 d(或 5 d)则作用较差,但乙胺嘧啶 2.5 mg/kg \times 8 d(或 5 d)则有保护作用,因此,此药的病因性预防效果不及乙胺嘧啶和伯喹。

2.4 对食蟹猴疟原虫的根治试验 食蟹猴疟原虫孢子 iv 注射健康恒河猴后,待原虫上升至 4%左右时,ig 给药 qd \times 5 d,同时加灌氯喹 20 mg/kg \times 3 d. 并设伯喹加氯喹作平行对照,血检观察至 105 d,结果见表 4. Am-2160 2.5 mg/kg \times 5 d 和 1.25 mg/kg \times 5 d 均无明显

根治作用,即使剂量为 2.5 mg/kg \times 5 d,同时用氯喹 20 mg/kg \times 3 d,全部猴也在 40—52 d 内复发,而伯喹 1.25 mg/kg \times 5 d 同时用氯喹 20 mg/kg \times 3 d,3 只猴观察至 105 d 均未见有原虫复发,说明 Am-2160 对食蟹猴疟原虫的根治作用较伯喹为差。

毒性 Am-2160 对小鼠 ig LD₅₀ 为 50 mg/kg \times 3 d; 犬的亚急性毒性试验⁽⁶⁾, Am-2160 剂量为 2.5 mg/kg \times 15 d 时,3 犬于服药过程中 6—8 d 内死亡 2 条;伯喹 2.5 mg/kg \times 15 d,3 犬也在 10—13 d 内死亡,结果相似。

Table 4. Curative action of Am-2160 on the sporozoite-infection of *P. cynomolgi* in monkeys.

Dose of sporozoite-inoculum ($\times 10^{-3}$)	Drug	mg(base)/kg \times days	Cured monkeys	Dosed monkeys	Days for parasite clearance	Day of relapse
391	Am-2160	2.5 \times 5	1 /	3	5,6	48,52(+)
391	Am-2160	1.25 \times 5	0 /	2	5	26,33(+)
2679	Am-2160 + chloroquine	2.5 \times 5 20.0 \times 3	0 /	2	2	40,52(+)
391	Am-2160 + chloroquine	1.25 \times 5 20.0 \times 3	0 /	3	2—4	42—52(+)
391	primaquine + chloroquine	1.25 \times 5 20.0 \times 3	3 /	3	2—3	105(-)

综上所述, 甲氯苄喹及其盐对约氏鼠疟原虫有病因性预防作用, 但时效时间较短; 对伯氏鼠疟原虫正常株和抗氯喹株均有抑制性治疗作用, 但作用不彻底, 易于复燃, 比硝喹为差。对食蟹猴疟原虫的病因性预防效果不及乙胺嘧啶和伯喹; 对食蟹猴疟原虫的根治作用亦较伯喹为差。且毒性较大, 故未作进一步深入研究。

参 考 文 献

- 1 Thompson PE, Bayles A, Olszewski B. *Am J Trop Med Hyg* 1970 Jun; 19 (1):12
- 2 刘连珠、任慧娴、况明书、王兴湘、杨 怡. 中华医学杂志 1980 年 7 月; 60 (7):426
- 3 王兴湘、冯崇英、况明书、任慧娴、邓宝忠. 中华医学杂志 1980 年 8 月; 60 (8):483
- 4 刘连珠. 1979 年 个人联系
- 5 Schmidt LH, Fradkin R, Vanghan D, Rasco J. *Am J Trop Med Hyg* 1977 Nov; 26 (6):1116
- 6 姜 涸. 1979 年 个人联系

Acta Pharmacologica Sinica 1982 Sep; 3 (3) : 210—213

ANTIMALARIAL ACTIVITIES OF 2,4-DIAMINO-6-[(4-CHLOROBENZYL)-N-METHYL-AMINO] QUINAZOLINE AND ITS SALTS

DAI Zu-rui, LI Yu-tang, CHEN Lin, GONG Jian-zhang (C C Kung)

(Second Military Medical College, Shanghai 201903)

LI Guang-yun, CHEN Gen-di, SHEN De-fu, XIN Zhi-min, ZHANG Xiu-ping

(Shanghai Institute of Pharmaceutical Industrial Research, Shanghai 201903)

ABSTRACT We synthesized 2,4-diamino-6-[(4-chlorobenzyl)-N-methylamino]quinazoline (Am-2159) and its salts. Tests were conducted for their activities against both rodent and simian malarial parasites. Am-2159 and its salts showed prophylactic action on *Plasmodium yoelii* infection in mice (Table 1), yet their effect lasted for <15 d, because they failed to protect the mice while challenged with the sporozoites 15 d after medication. Am-2159 and its hydrochloride (Am-2160) suppressed *P. berghei* infection in mice, the ED₅₀ of Am-2160 against both normal and chloroquineresistant strains of *P. berghei* being

8.7±2.2 and 4.1±1.0 mg/kg × 3 d, respectively. Am-2160 showed neither prophylactic activities (2.5 mg/kg × 8 or × 5 d) nor curative effect (1.25 mg/kg × 5 d) when administered ig to rhesus monkeys infected with the sporozoites of *P. cynomolgi*. Its toxicity deserved further test.

KEY WORDS 2,4-diamino-6-[(4-dichlorobenzyl)-N-methyl-amino]quinazoline; normal and chloroquine-resistant *Plasmodium berghei*; suppressive effect; *Plasmodium yoelii*; prophylactic action; *Plasmodium cynomolgi*; curative action