

甲硫氨酸脑啡肽促进 T 淋巴细胞增殖而抑制抗体产生细胞的形成

杨四旬、李晓玉 (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031, 中国)

摘要 甲硫氨酸脑啡肽 0.1-100 nmol/L 显著增强 T 细胞丝裂原诱导的淋巴细胞增殖, 但明显抑制 B 细胞

丝裂原诱导的淋巴细胞增殖及绵羊红细胞诱导的空斑细胞形成。单独甲硫氨酸脑啡肽对免疫功能无明显影响。纳洛酮对 Concanavalin A 诱导的淋巴细胞转化亦有促进作用。结果还显示甲硫氨酸脑啡肽对免疫功能低下动物作用与比对正常鼠作用为强

关键词 甲硫氨酸脑啡肽; 抗体生成细胞; 淋巴细胞转化; 纳洛酮; 环孢霉素类

中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1990 Jul; 11 (4) : 359-362

三氟乙酰伯氨喹杀疟原虫组织期的作用及其急性毒性

叶秀玉、邵葆若 (中国预防医学科学院寄生虫病研究所¹, 上海 200025, 中国)

Tissue schizontocidal action and acute toxicity of trifluoroacetyl primaquine

YE Xiu-Yu, SHAO Bao-Ruo
(Institute of Parasitic Diseases, Chinese Academy of Preventive Medicine, Shanghai 200025, China)

ABSTRACT Trifluoroacetyl primaquine (M-8506), 6-methoxy-5-trifluoroacetyl-8-(4-methyl-butyl-amino)-aminoquinoline oxalate, synthesized by the Institute of Parasitic Diseases was compared with primaquine for tissue schizontocidal action and acute ig LD₅₀.

In *P. yoelii* sporozoite infected mice, the protection rates with ig M-8506 5, 10 and 20 mg (base)/kg on the day of infection were 56.7, 87.2 and 100%, respectively. These were comparable to the protection rates with primaquine 5, 10 and 20 mg(base)/kg (54.4, 90.8 and 100%, respectively).

The radical curative effect was conducted in *P. cynomolgi* sporozoite infected *Macaca mulatta*. Since im pyronaridine 10 mg/kg b.i.d. (6 h apart) completely eliminated the parasites in monkeys infected with erythrocytic stages of *P. cynomolgi*, the tissue schizontocidal activities of M-8506 and primaquine were observed by im administration of pyronaridine 10 mg/kg b.i.d. on d 1.

M-8506 at 0.75, 1.5 and 3 mg/(kg·d) × 3 d

plus pyronaridine were given to 7, 4 and 2 infected monkeys with parasitemia respectively. All the monkeys, except one receiving 0.75 mg/(kg·d) × 3 d, were radically cured. Primaquine 0.75, 1.5 and 3 mg/(kg·d) × 3 d were administered to 3, 3 and 2 monkeys respectively. Two monkeys receiving primaquine 0.75 mg/(kg·d) × 3 d relapsed on d 42. The parasitemia reappeared earlier than that treated with M-8506 0.75 mg/(kg·d) × 3 d and relapsed on d 62.

Because M-8506 is less toxic than primaquine in mice and more effective in radical treatment of simian malaria, further studies on trifluoroacetyl primaquine are worthy to be considered.

KEY WORDS antimalarials; trifluoroacetyl primaquine; primaquine; *Plasmodium cynomolgi*; *Plasmodium yoelii*; combination drug therapy

摘要 三氟乙酰伯氨喹(M-8506)对约氏疟原虫孢子感染小鼠的保护率与伯氨喹相仿。M-8506对食蟹猴疟原虫组织期的根治作用优于伯氨喹。7只感染的恒河猴 ig M-8506 0.75 mg/(kg·d) × 3 d 合并 im 咯萘啶, 6只猴治愈; 而相同剂量伯氨喹合并咯萘啶治疗3只猴仅1只猴治愈。M-8506对小鼠的急性 LD₅₀ 为 146.2 mg/kg。伯氨喹为 68.8 mg/kg。

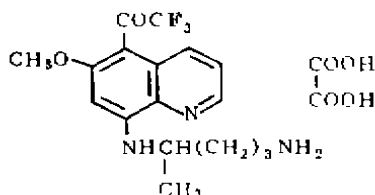
关键词 抗疟药; 三氟乙酰伯氨喹; 伯氨喹; 食蟹猴疟原虫; 约氏疟原虫; 联合药物治疗法

Received 1989 Sep 28 Accepted 1990 Feb 15

¹ WHO Collaborating Centre for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis

从本世纪 50 年代起根治间日疟的药物一直是伯氨喹。但它的疗程长, 毒性大, 对葡萄

糖 6-磷酸脱氢酶缺乏者容易引起紫绀及溶血等严重反应^(1,2)。为此,国内外许多学者为寻找新药曾在伯氨喹的化学结构上进行了许多改造⁽³⁾,但至今尚未能有替代伯氨喹的新药。我所药物化学研究室合成三氟乙酰伯氨喹(trifluoroacetyl primaquine, 化学名 6-甲氧基-5-三氟乙酰基-8-(4-甲基丁氨基)-氨基喹啉草酸盐, M-8506)是因它有一定的根治作用,但我们未见进一步研究报道⁽⁴⁾。我们的初筛实验得出, M-8506 的杀组织期作用较好, 毒性低于伯氨喹, 故用约氏疟原虫-斯氏按蚊及食蟹猴疟原虫-斯氏按蚊两种模型比较 M-8506 与伯氨喹对组织期原虫的疗效以及对小鼠的急性毒性, 以了解 M-8506 是否优于伯氨喹和是否值得进一步研究。



MATERIALS AND METHODS

约氏疟原虫(*Plasmodium yoelii* 265 BY), 1976 年从法国巴黎自然博物馆动物学实验室引进, 通过斯氏按蚊及小鼠血传保种, 食蟹猴疟原虫(*Plasmodium cynomolgi* Mayer 1907) 于 1967 年从越南引进, 通过斯氏按蚊及猕猴血传保种。该原虫经过鉴定⁽⁵⁾亦称猴间日疟原虫。所建立的食蟹猴疟原虫-斯氏按蚊系统猴疟模型适用于筛选杀组织期抗疟药的研究⁽⁶⁾。斯氏按蚊(*Anopheles stephensi* Liston, 1901) 1973 年从英国伦敦 Horton 医院引进, 定名为 Hor 株, 由本所媒介生物与防治研究室保种并提供。

小鼠为昆明远交系, 体重 20 ± 2 g (n = 210)。♀ ♂ 各半, 本所动物房供应, 恒河猴

(*Macaca mulatta*) 购自广西, 体重 3.2 ± SD 1.1 kg (n = 32)。♀ ♂ 不拘。使用前血检整个厚血膜 3 次, 证明无疟原虫或肝囊原虫感染。

三氟乙酰伯氨喹(M-8506)草酸盐含基质 79.77%, 由本所药物化学研究室合成并提供。磷酸伯氨喹(含基质 57%)为重庆西南第二制药厂产品, 磷酸咯萘啶针剂(40 mg 基质/ml)为杭州民生制药厂产品。给药时的剂量均按基质计算。

对鼠疟和猴疟的疗效观察

1 M-8506 与伯氨喹对孢子感染小鼠的保护作用 制备约氏疟原虫孢子阳性斯氏按蚊悬液^(7,8), 以每鼠 ip 1.5 只阳性蚊(约 3 × 10⁴)孢子, 每组 10 鼠, 30 min 后分别 ig M-8506 或伯氨喹 5, 10 及 20 mg/kg, 另设不给药对照组。于孢子接种后 7 d 及 14 d 采尾血制成薄血膜。镜检 50 个油镜视野未找到疟原虫为阴性。计算各组原虫血症阳性率, 以 14 d 内小鼠不出现原虫血症为受到保护, 并按下列公式求出各试验组的保护率。

$$\text{保护率(\%)} = (\text{对照组原虫阳性率} - \text{试验组原虫阳性率}) / \text{对照组原虫阳性率} \times 100\%$$

2 咯萘啶对食蟹猴疟原虫红内期感染猴的疗效 取疟原虫血症阳性的种源猴血, iv 受试猴 5 只, 待原虫血症阳性后(红细胞感染率为 2.8 ± 1.2%), im 咯萘啶 10 mg/kg b.i.d.(间隔 6 h) 治疗。治后逐日查血, 以连续 3 d 查完整个厚血膜找不到疟原虫定为转阴。其后每周血检 1 次, 以 3 个月原虫血症不复燃判为治愈。

3 M-8506 合并咯萘啶对食蟹猴疟原虫组织期的根治作用 共进行 2 次实验。实验 I, 收集食蟹猴疟原虫孢子阳性的斯氏按蚊约 2000 只(孢子阳性率为 50%)+生理盐水 45 ml 制成悬液⁽⁶⁾, 按每猴 2 ml(约 5 × 10⁵ 个子孢子) iv 接种 14 只健康猴。待全部猴出现原虫血症后分组治疗。红细胞感染率治前为 9 ± 9%。M-8506 按 0.75, 1.5 及 3.0 mg/(kg · d) × 3 共治疗 8 只猴(2, 4 及 2 只)伯氨喹 1.5 及

3.0mg/kg·d×3 共治 5 只猴(3 及 2 只). 全部治疗猴于 ig M-8506 或伯氨喹当天(d₀)im 咯萘啶 10mg/kg b.i.d..另 1 感染猴作为不治疗对照. 观察时间与效果评价同上. 实验 II, 子孢子 (2×10⁵) 感染的原虫血症阳性猴 13 只, 治疗前红细胞感染率为 9±5%. 用 M-8506 0.375 及 0.75 mg[→]/(kg·d)×3 合并咯萘啶各治疗 3 及 5 只猴, 治后原虫复燃者再用 M-8506 1.5 mg/(kg·d)×3 合并咯萘啶复治. 用伯氨喹 0.375 及 0.75mg/(kg·d)×3 合并咯萘啶各治疗 2 及 3 只猴, 治后原虫复发的 4 只猴中 3 只再给予伯氨喹 1.5 mg/(kg·d)×3 合并咯萘啶复治, 另 1 只复发猴作为不再治疗的对照. 凡 6 个月内不出现原虫复燃者视为治愈.

对小鼠的急性毒性观察 正常小鼠 140 只, M-8506 设 6 个剂量组(i=0.75)每组 10 鼠, 分别 ig 1 剂的剂量为 63.3, 84.4, 112.5, 150, 200 及 266.7mg/kg. 伯氨喹 7 组的剂量为 26.7, 35.6, 47.5, 63.3, 84.4, 112.5 及 150 mg/kg.另 10 鼠为不给药对照, 逐日记录小鼠死亡数, 以药后 1 d, 3 d 及 7 d 的累计死亡率按 Finney 法求出 LD₅₀ 及 95%可信限.

RESULTS

鼠症的疗效 M-8506 与伯氨喹剂量为 5, 10 及 20 mg/kg 时, 对约氏疟原虫子孢子感染小鼠的保护率各为 56.7%, 87.2% 及 100%与 54.4%, 90.8% 及 100%, 两者的效果无显著差异(P>0.05).

猴症的疗效 咯萘啶 10 mg/kg b.i.d. im 治疗食蟹猴疟原虫红内期感染的阳性猴 5 只, 原虫转阴时间均为首次药后 2-3 d, 持续观察 3 个月, 未见原虫复燃, 全部治愈. 故根治实验均用该疗法清除子孢子感染猴的红内期原虫.

M-8506 或伯氨喹合并咯萘啶根治食蟹猴疟原虫组织期的根治作用共进行 2 次实验, 治

疗前红细胞感染率为 9±SD 7%, 26 只猴经 M-8506 或伯氨喹合并咯萘啶治疗, 原虫转阴时间均在 2-3 d 内. 实验 I, 8 只猴用 M-8506 0.375-3.0 mg/(kg·d)×3 合并咯萘啶治后, 全部根治. 5 只猴用伯氨喹 1.5mg/(kg·d)×3 合并咯萘啶治疗后, 4 只猴根治. 1 只猴(35 号)于治疗后 40 d 出现原虫复发, 该猴用相同剂量伯氨喹合并咯萘啶复治后 69 d 又查到疟原虫. 改用 M-8506 1.5 mg/(kg·d)×3 合并咯萘啶再治疗亦未能根治, 于治后 47d 原虫复发, 该猴未再治疗, 长期带虫, 于第 3 疗程后 104 d 死亡. 尸解见有较严重的胃肠道病变. 未治疗的 1 只对照猴在 3 个月观察期内始终查见疟原虫. 实验 II, 用 M-8605 0.375 及 0.75 mg/(kg·d)×3 合并咯萘啶各治疗 3 只及 5 只猴, 分别有 2 只及 1 只猴原虫复发, 这 3 只原虫复发猴用 M-8506 1.5 mg/(kg·d)×3 合并咯萘啶复治后全部根治. 用伯氨喹 0.375 及 0.75mg/(kg·d)×3 合并咯萘啶治疗 2 只猴及 3 只猴, 分别有 2 只猴原虫复发. 该 4 只复发猴中的 3 只猴, 用伯氨喹 1.5mg/(kg·d)×3 合并咯萘啶复治后得到根治. 1 只复发猴未经复治, 在继续观察的 6 个月内始终查到疟原虫(Tab 1).

小鼠的急性毒性 M-8506 在 63.3-

Tab 1. Tissue schizontocidal action of trifluoroacetyl primaquine (M-8506) in comparison with primaquine (PQ)-PND in *P. cynomolgi* infected monkeys

Dosage (mg / (kg · d))			Preparasitemia		
M-8506 (ig)	PQ (ig)	PND (im)	n	Clearance time (d)	Relapsed monkeys (d)
0	0	0	1	No clearance	
3.0×3	0	20	2	2-3	0
1.5×3	0	20	4	2-3	0
0.75×3	0	20	7	2-3	1(62)
0.375×3	0	20	3	2-3	2(27,42)
0	3.0×3	20	2	2-3	0
0	1.5×3	20	3	2-3	1(No.35)(40)
0	0.75×3	20	3	2-3	2(42,42)
0	0.375×3	20	2	2-3	2(27,27)

266.7 mg/kg 剂量范围内 6 个组的药后 7 d 内累计死亡数依次为 1, 1, 2, 3, 6 及 10, 与伯氨喹 26.7-150 mg/kg 7 个组的累计死亡数 0, 2, 2, 3, 6, 9 及 10 比较, M-8506 的毒性明显低于伯氨喹, 两药在 1d, 3d 及 7d 的 LD₅₀ 比为 2.23 : 1, 1.87 : 1 及 2.21 : 1 (Tab 2), 即 M-8506 的 LD₅₀ 约为伯氨喹的 2 倍。

Tab 2. Acute toxicity of lg M-8506 in comparison with primaquine (PQ) in mice.

Day after dosing	LD ₅₀ mg/kg (95% CL)	
	M-8506	PQ
d 1	392.8 (167.5-511.8)	131.3 (92.6-185.4)
d 3	200.1 (156.3-256.1)	107.0 (90.2-127.0)
d 7	146.2 (125.1-170.8)	68.8 (56.5-83.9)

DISCUSSION

咯萘啶是杀红内期疟原虫的抗疟新药⁽⁹⁾。本实验用 10 mg/kg b.i.d. im 可完全清除食蟹猴疟原虫的无性期, 故以该疗法合并 M-8506 观察其根治疟疾的效果。

M-8506 0.75 mg/(kg·d)×3 合并咯萘啶对猴疟子孢子感染即有较好的根治作用, 7 只猴仅 1 只于治后 62 d 原虫复发, 而相同剂量伯氨喹合并咯萘啶治疗的 3 只猴有 2 只原虫复发, 35 号猴先后 3 次用伯氨喹或 M-8506 合并咯萘啶治疗均出现原虫复发, 该猴的胃肠道病变可能影响了 M-8506 或伯氨喹的吸收而导致原虫复发, 红内期裂殖体杀灭剂咯萘啶因采用肌注给药, 故每次治疗后原虫血症均在 3 d 内转阴。至于 M-8506 或伯氨喹 1.5 mg/(kg·d)×3 是否会加重该猴胃肠道的病变值得注意。除 35 号猴外, M-8506 或伯氨喹合并咯萘啶分别治疗的 20 及 14 只猴次, 均未

见副作用。

鉴于等剂量的 M-8506 与伯氨喹对食蟹猴疟原虫的根治疗效以 M-8506 较优, 而其对小鼠的急性毒性却低于伯氨喹, 因此 M-8506 值得作进一步研究。

ACKNOWLEDGMENTS 张家坝、陈克明、林宝英、倪齐珍、徐正、储言红和刘和香等参加过部分工作。

REFERENCES

- 1 Zhang JX. Advances of chemotherapy of malaria. *Chin J Inter Med* 1986; 25 : 361
- 2 Clyde DF. Clinical problems associated with the use of primaquine as a tissue schizontocidal and gametocytocidal drug. *Bull WHO*. 1981; 59 : 391
- 3 Huang LS. Progress in the pharmaceutical chemistry of antimalarial agents during the last two decades. *Acta Pharm Sin* 1983; 18 : 353
- 4 Zheng XY, Chen C. Research on new drugs for radical cure of vivax malaria: Synthesis of 5-trifluoroacetyl primaquine. *Annual Reports Inst Parasit Dis, Chin Acad Prevent Med* 1986 : 162
- 5 Zhang JX, Huang ZS, Zheng SC, Yang BL, Ye XY. On identification of a species of malaria parasite from monkeys. *Acta Zool Sin* 1980; 26 : 140
- 6 Zhang JX, Huang WZ, Ye XY, et al. Establishment of monkey model of *Plasmodium cynomolgi*-*Anopheles stephensi* system and its use for tissue schizontocide test. *Acta Acad Med Sin* 1982; 4 : 119
- 7 Huang WZ, Zhang JX, Ye XY, et al. System model of *Plasmodium yoelii*-*Anopheles stephensi* for screening tissue schizontocides. *Acta Acad Med Sin* 1982; 4 : 229
- 8 Shao BR, Ye XY, Zheng H. A screening method for tissue schizontocides with *Plasmodium yoelii*. *Acta Pharmacol Sin* 1984; 5 : 201
- 9 New Drug group of the Former Department of Malaria, Institute of Parasitic Diseases, Chinese Academy of Medical Sciences. Experimental studies on chemotherapeutic effects and toxicities of a new antimalarial drug 7351. *Acta Pharm Sin* 1980; 15 : 630