

## • 新药发现与研究实例简析 •

新药创制是复杂的智力活动, 涉及科学研究、技术创造、产品开发和医疗效果等多维科技活动。每个药物都有自身的研发轨迹, 而构建化学结构是最重要的环节, 因为它涵盖了药效、药代、安全性和生物药剂学等性质。本栏目以药物化学视角, 对有代表性的药物的成功构建, 加以剖析和解读。

从金鸡纳树皮分离出奎宁治疗疟疾至今, 已有近200年历史, 如今已不乏多种类型的抗疟药物。GSK公司针对70年前研发、现今仍在应用的伯氨喹之不足, 进行结构优化, 最终达到了实现安全、长效、预防和根治的目标, 在2018年上市了这一古老疾病的新药他非诺奎, 这是一个典型的公益性研发项目, 也为我们提供了基于老药再创造的范例, 因为科学技术的进步为人们提供了更多的手段, 得以有针对性地优化现有的药物。 (编者按)

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-1126

# 老药改造: 根治性的抗疟药他非诺奎

郭宗儒

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 北京 100050)

## 1 研发背景

研制抗疟药是个老话题, 虽然现已有多种类型药物在临床应用, 但对疟疾的复发和预防药物仍是发展中国家之需要, 特别是治疗危害较大的间日疟原虫引起的间日疟的复发和预防, 尚需更安全有效的药物。

自1820年从金鸡纳 (*Cinchina officinalis*) 树皮分离出奎宁 (**1**, quinine) 作为抗疟药以来, 研发出许多以喹啉为母核的合成药物, 多为胺基喹啉化合物如4-胺基类的氯喹 (**2**, chloroquine, 1944年上市) 和8-胺基化合物伯氨喹 (**3**, primaquine, 1946年上市)。也有非喹啉系列的药物如苯芬醇 (**4**, benflumetol) 可认为是4-胺

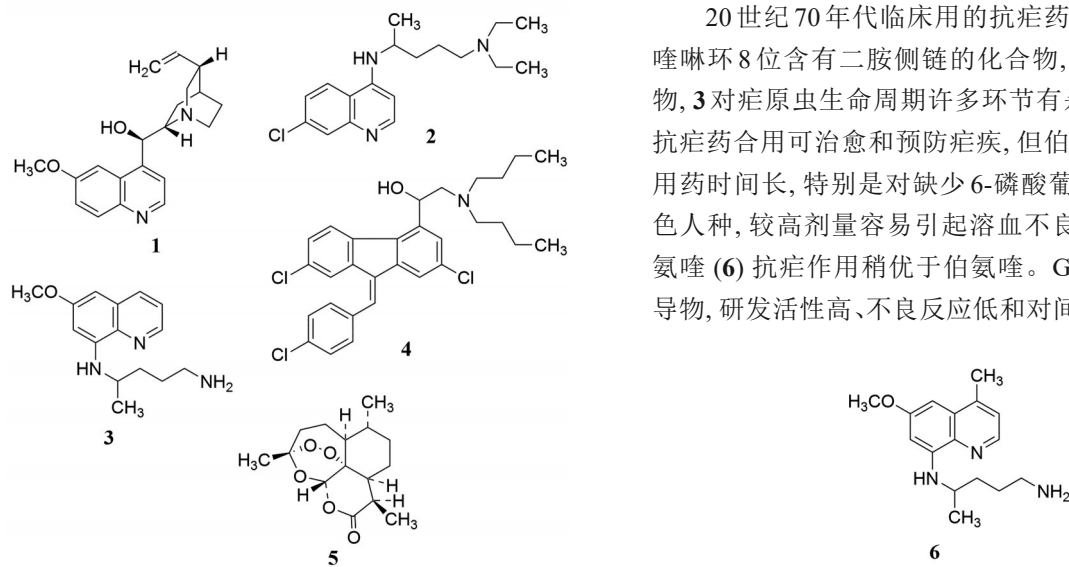
基喹啉的等排物。青蒿素 (**5**, artemisinin) 划时代的发现, 开创了全新骨架和作用机制的药物。

## 2 活性评价

用小鼠评价化合物的抗疟活性的模型, 是将致死量的伯氏疟原虫 (*Plasmodium berghei*) 感染小鼠, 3天后皮下注射受试物的麻油溶液。观察小鼠生存时间。空白对照组小鼠平均存活时间 (MST) 为  $6.2 \pm 0.5$  天。受试组的全部小鼠超过 MST 时间, 表明有抗疟作用。存活60天的小鼠表明治愈。高活性化合物进一步用食蟹猴疟原虫 (*Plasmodium cynomolgi*) 感染恒河猴, 与对照组比较存活时间以评价对灵长类的抗疟作用。

## 3 研发目标和先导化合物

20世纪70年代临床用的抗疟药中, 伯氨喹 (**3**) 等喹啉环8位含有二胺侧链的化合物, 疗效优于其他药物, **3** 对疟原虫生命周期许多环节有杀灭作用, 与其他抗疟药合用可治愈和预防疟疾, 但伯氨喹治疗窗口窄, 用药时间长, 特别是对缺少6-磷酸葡萄糖脱氢酶的黑人种, 较高剂量容易引起溶血不良反应。4-甲基伯氨喹 (**6**) 抗疟作用稍优于伯氨喹。GSK公司以**6**为先导物, 研发活性高、不良反应低和对间日疟有治愈和预



防作用的新抗疟药。

#### 4 结构优化

**4.1 4-位取代基的变换** 变换化合物 6 中的 4 位甲基, 分别用苯氧基、苯胺基或苯硫基的取代基替换, 或用甲氧基、甲硫基、氨基、羟基或苯氧基替换, 合成的代表性化合物列于表 1。

构效关系表明, 4 位甲基中氢原子被任何基团取代都失去活性, 化合物 16 对感染小鼠显示有微弱活性, 提示加入硫原子活性显著减弱, 变换成其他基团都没有活性, 提示 4-甲基的重要性。表 2 列出了活性化合物对猴和小鼠的抗疟作用, 其中化合物 24 给药  $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  即显示活性,  $160 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  下 5 只感染小鼠中 3 只治愈, 高剂量  $640 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  全部治愈, 而且没有出现毒性反应。猴的剂量  $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  呈现活性, 说明 24 对动物的安全有效性强于 3 和 6 (LaMontagne MP, Markovac A, Menke JR. Antimalarials. 10. Synthesis of 4-substituted primaquine analogues as candidate antima-

larials. J Med Chem, 1977, 20: 1122-1127)。

**4.2 5-和 6-位取代基的变换** 文献报道 5-甲氧基取代的 8-二胺烷基喹啉系列的活性强于 5-位无取代的化合物, 进而考察了 5,6-二甲氧基和 5,6-亚烷二氧基取代的 8-二胺取代的化合物的活性。首先评价了化合物对感染小鼠的活性, 表 3、4 列出了不同剂量下的实验组与空白组小鼠存活时间的差值 ( $\Delta\text{MST}$ )、治愈作用 (C) 和毒性 (T)。

表 3、4 的数据显示了化合物的抑制活性 ( $\Delta\text{MST}$ )、C 和 T, 表明低剂量下对恶性疟感染的小鼠的抑制作用强于 3 和 6 的化合物有 25、26、28、30、32 和 34, 29 在  $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量下呈现治愈作用, 说明 5,6-二甲氧基的抗疟活性强于没有甲氧基的 3 和 6。然而提高剂量的化合物则呈现毒性。5,6 亚烷二氧基取代的化合物 (32~35) 未见优胜分子。

表 5 列出了化合物 25~35、3 和 6 对感染猴的治愈作用。可以看到化合物 25~30 在  $0.35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量

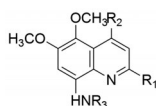
**Table 1** Typical compounds with varied 4-substituents or 8-diamino side chain

Compd.	R	Compd.	R	Compd.	R
7		12		18	NH <sub>2</sub>
8		13		19	H <sub>3</sub> CNH <sub>2</sub>
9		14		20	
10		16		21	OH
11		17			

**Table 2** Antimalarial activity of typical compounds. \*Means one monkey was cured in four animals. \*\*Means three mice were cured. \*\*\*Means toxicity for all five mice.  $\Delta\text{MST}$  = Numbers with decimal point; NT = Not test

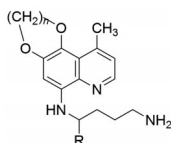
Compd.	<i>P. cynomolgi</i> (rhesus monkey)		<i>P. berghei</i> (mice), $\Delta\text{MST}$ , days at $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$					
	Daily dose/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ( $\times 7$ )	Activity	20	40	80	160	320	640
22	1.00	Inactive	0.1	0.1	1.3	3.5	6.7	8.1
23	0.25	Inactive	NT	NT	NT	3.9	5.5	5/5 T***
	0.50	1/4 C*	NT	NT	NT	NT	NT	NT
	1.00	2/4 C	NT	NT	NT	NT	NT	NT
24	0.50	Inactive	5.8	7.0	10.4	3/5 C**	5/5 C	5/5 C
	1.00	1/1 C	NT	NT	NT	NT	NT	NT
3	0.25	Inactive	NT	5.0	9.4	2T	5T	5T
	0.50	10/12 C	NT	NT	NT	NT	NT	NT
	1.00	4/4 C	NT	NT	NT	NT	NT	NT
6	0.25	8/12 C	NT	NT	NT	NT	NT	NT
	0.50	13/13 C	NT	NT	5.5	8.0	10.1	3C, 1T
	1.00	1/1 C	NT	NT	NT			

**Table 3** Antimalarial activity of 5,6-dimethoxy-8-quinolinediamines. NT = Not test



Compd.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	<i>P. berghei</i> (mice), ΔMST, mg·kg <sup>-1</sup> , sc							
				5	10	20	40	80	160	320	640
25	H	CH <sub>3</sub>	CH(CH <sub>3</sub> )(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NH <sub>2</sub>	NT	NT	5.7	7.1	8.9	9.9	11.9	5T
26	H	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH(CH <sub>3</sub> )NH <sub>2</sub>	NT	NT	11.4	5T	NT	5T	NT	5T
27	H	CH <sub>3</sub>	CH(CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> )(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NH <sub>2</sub>	NT	NT	-	0.1	NT	5T	NT	5T
28	H	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> CH(CH <sub>3</sub> )NH <sub>2</sub>	NT	NT	7.5	8.7	NT	5T	NT	5T
29	H	CH <sub>3</sub>	CH(CH <sub>3</sub> )(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> NH <sub>2</sub>	NT	NT	3C	1C	NT	5T	NT	5T
30	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH(CH <sub>3</sub> )(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NH <sub>2</sub>	NT	NT	4.9	6.3	NT	5T	NT	5T
31	H	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH(CH <sub>3</sub> )NH <sub>2</sub>	NT	NT	1.3	3.1	5.1	7.3	9.9	5T
										3T	

**Table 4** Antimalarial activity of 5,6-alkenedioxy-8-quinolinediamines



Compd.	n	R	<i>P. berghei</i> (mice), ΔMST, mg·kg <sup>-1</sup> , sc							
			5	10	20	40	80	160	320	640
32	1	CH <sub>3</sub>	-	-	-	0.1	-	0.1	-	0.3
33	2	CH <sub>3</sub>	6.7	8.3	11.1	5T	-	5T	-	5T
34	1	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	-	-	-	0.5	-	0.5	-	0.9
35	2	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	7.8	7.6	7.2	7.6	-	5T	-	5T
3			-	-	-	5.0	9.4	2T	5T	5T
6			-	-	3.1	4.9	5.5	9.1	10.1	3C
										1T

**Table 5** Radical curative antimalarial data of compounds 25–35. NT = Not test

Compd.	<i>P. cynomolgi</i> (rhesus): mg·kg <sup>-1</sup> per day (×7), po				
	0.75	0.5	0.35	0.125	0.0625
25	NT	1/1C	3/4C	11/13C	0/5
26	NT	1/1C	5/6C	NT	NT
27	4/5C	NT	4/4C	6/10C	0/2C
28	3/3C	NT	2/2C	NT	NT
29	3/5C	NT	1/4C	NT	NT
30	4/5C	NT	2/4C	NT	NT
31	0/2C	NT	0/2C	NT	NT
32	0/3C	NT	0/3C	NT	NT
33	0/2C	NT	0/3C	NT	NT
34	0/5C	NT	0/3C	NT	NT
3	4/4C	10/12C	0/2C	NT	NT
6	1/1C	13/14C	8/14C	NT	NT

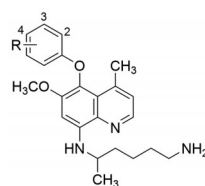
下都有不同程度的治愈作用, 25和27在0.125 mg·kg<sup>-1</sup>也呈现治愈效果, 而亚烷二氧基化合物和3与6只高剂量下有效, 提示5,6-环状结构的治疗效果差

(LaMontagne MP, Markovac A, Khan MS. Antimalarials. 13. 5-Alkoxy analogues of 4-methylprimaquine. J Med Chem, 1982, 25: 964-968).

**4.3 5-芳氧基的变换** 5-位甲氧基证明是必要的取代基, 下一步是考察换成5-芳氧基对活性的影响, 为此, 将8-位固定为呈现高活性的侧链NHCH(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>, 合成的代表性化合物及其对伯氏疟原虫感染的小鼠活性列于表6。这5个化合物(36~40)的抗疟活性都强于3和6, 表明5-芳氧基的活性强于5-甲氧基。尤其是38在5 mg·kg<sup>-1</sup>剂量下可治愈感染, 而且在剂量高达640 mg·kg<sup>-1</sup>没有呈现毒性, 提示有宽阔的治疗窗口。

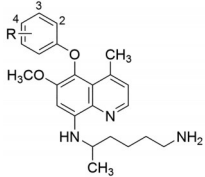
进而评价了化合物36~40对食蟹猴疟原虫感染猴的7天治疗效果, 列于表7。结果显示活性最强的是36、39和40, 在每日0.316 mg·kg<sup>-1</sup>剂量下治愈了全部的

**Table 6** Suppressive antimalarial activity of compounds 36–40 on infected mice. NT = Not test



Compd.	R	Mouse test infected by <i>P. berghei</i> , five mice, mg·kg <sup>-1</sup> (×1)								
		5	10	20	40	80	160	320	640	
36	3-CF <sub>3</sub>	6.5	2C	5C	5C	5C	5C	5C	5C	1C,2T
37	2,4-Cl <sub>2</sub>	4.0	1C	5C	5C	5C	5C	5C	4C,1T	3C,1T
38	3,4-Cl <sub>2</sub>	4C	5C	5C	5C	5C	5C	5C	5C	5C
39	4-OCH <sub>3</sub>	5.5	5.9	1C	5C	5C	5C	5C	5C	2C,3T
40	4-F	7.0	3C	4C	5C	5C	5C	5C	4C,1T	3C,2T
3	NT	NT	NT	2.2	4.2	6.4	7.0	5T	5T	
6	NT	NT	NT	4.0	5.0	9.4	10.8,2T	5T	5T	

**Table 7** Radical curative activity of 4-methyl-5-(aryloxy)primaquine analogues on infected monkey. \*Ratio of moles of primaquine to achieve 100% cures divided by moles of test compound to achieve 100% cures



Compd.	R	Test of infected monkeys, dose in mg·kg <sup>-1</sup> (×7)			Molar primaquine index*
		0.1	0.316	1.0	
36	3-CF <sub>3</sub>	0/2 C	2/2 C	2/2 C	4.8
37	2,4-Cl <sub>2</sub>	0/3 C	1/2 C	3/3 C	1.4
38	3,4-Cl <sub>2</sub>	0/3 C	1/2 C	3/3 C	1.3
39	4-OCH <sub>3</sub>	0/2 C	2/2 C	3/3 C	4.3
40	4-F	0/3 C	2/2 C	3/3 C	4.2
3	-	Not test	0/2 C	1/2 C	1.0

感染猴。36 的治疗指数尤其突出。

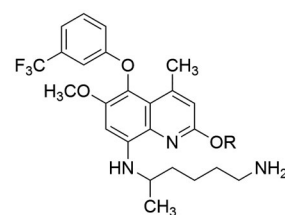
化合物 36 与氯喹合用, 给一次剂量 0.875 mg·kg<sup>-1</sup> 灌胃感染猴, 由于协同作用可全部治愈 (4 只), 0.437 5 mg·kg<sup>-1</sup> 全部得到缓解, 显著优于伯氨喹与氯喹的合用疗效 (数据省略), 提示结构中 4-甲基和 5-*m*-CF<sub>3</sub>-苯氧基对提高抗疟活性的重要性 (LaMontagne MP, Blumbergs P, Strube RE. Antimalarials. 14. 5-(Aryloxy)-4-methylprimaquine analogues. A highly effective series of blood and tissue schizonticidal agents. J Med Chem, 1982, 25: 1094-1097)。

**4.4 2-位取代基的变换** 优化至此, 化合物 36 可认为是里程碑式分子。但尚未探索喹啉环的 2-位取代对活性的影响。既往的研究表明, 2-位引入甲氧基可降低化合物的毒性, 但往往也降低抗疟活性。在这个骨架上 2-甲氧基的作用如何, 则以 36 位起点, 合成了化合物 41 以及 2-羟基 (42)、2-芳氧基 (43, 44) 化合物。结果表明 2-甲氧基化合物 41 的治疗疟原虫感染小鼠的活性强于 36 和相应的 2-羟基化合物 42 和 2-芳氧基化合物 43 和 44。

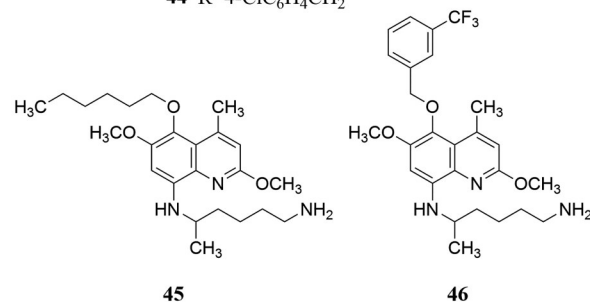
在 2-位甲氧基的存在下, 尚需考察 5-位的 3'-三氟甲苯氧基是否仍是优选片段, 因而合成了链状化合物 5-正己氧基 (45) 和芳烷氧基 3'-三氟甲苯氧基 (46) 化合物, 45 和 46 也呈现较强的抗疟活性, 提示 2-甲氧基和 5-位疏水性基团有利于活性。不过未见报道 2-甲氧基-5-(4'-甲氧基) 或 2-甲氧基-5-(4'-氟代) 化合物及其活性, 因为化合物 39 和 40 的活性与 36 相当。

## 5 高活性化合物的比较和候选物的确定

将上述较高活性的化合物 36、41、45 和 46 评价对



41 R=CH<sub>3</sub>; 42 R=H;  
43 R=4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>;  
44 R=4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>



感染小鼠 (皮下给药) 和感染猴 (灌胃给药) 的量效关系, 并与伯氨喹 (3) 作比较, 结果列于表 8 和表 9。

**Table 8** Suppressive antimalarial activity of typical compounds for *P. berghei* infected rane mice. \*Abbreviations used are I = Inactive, C = Cure, T = Toxic, NT = Not test

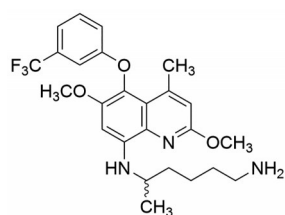
Compd.	ΔMST, cure, toxic or inactive at mg·kg <sup>-1</sup> , sc*							
	5	10	20	40	80	160	320	640
3	NT	NT	NT	I	I	9.0	2T	5T
36	I	I	1C	4C	5C	5C	5C	4C/1T
41	I	I	3C	5C	5C	5C	5C	4C/1T
45	I	I	10.5	2C	5C	4C	5T	5T
46	I	8.1	1C	2C	2C/1T	1C/4T	3T	NT

**Table 9** Radical curative antimalarial activity of typical compounds for *P. cynomolgi* infected rhesus monkeys. NT = Not test

Compd.	mg·kg <sup>-1</sup> per day (×7), po					Molar primaquine index
	0.031 6	0.1	0.316	1.0	1.3	
3	NT	0/2 C	0/2 C	1/2 C	6/6 C	1.0
36	0/2 C	0/2 C	2/2 C	2/2 C	NT	6.8
41	0/2 C	2/4 C	4/4 C	2/2 C	NT	12.8
45	0/3 C	1/4 C	3/3 C	2/2 C	NT	NT
46	NT	NT	NT	NT	NT	NT

从表 9 可以看出化合物 41 对两种感染动物的治愈作用、安全性和治疗指数都优于其他化合物, 进而用犬评价了 41 和 36 血浆中生成高血红蛋白量 (越低越好), 41 的水平比 36 低两倍。

41 对大鼠的急性毒性 (灌胃和腹腔注射) 都显著低于 36 和 3 (数据省略)。从而确定了 41 为候选化合物进入开发阶段, 定名为他非诺奎 (tafenoquine), 分子中含有 1 个手性碳, 应用消旋体。经临床前和临床研究



Tafenoquine (41)

证明他非诺奎作用于间日疟和卵形疟原虫感染的孢子期, 并且在人体内半衰期长达2~3周, 因而短期服药

(3天)后可完全清除体内的疟原虫, 其安全、有效和短期服药等多方面性质优于现有的喹啉类药物。美国FDA于2018年批准了这个由GSK公司研发的新抗疟药上市, 用于预防、治疗复发性疟疾患者, 成为60年来发明的根治性的抗疟药 (LaMontagne MP, Blumbergs P, Smith DC. A ntimalarials. 16. Synthesis of 2-substituted analogs of 8-[(4-amino-1-methylbutyl)amino]-6-methoxy-4-methyl-5-[3-(trifluoromethyl)phenoxy]quinoline as candidate antimalarials. J Med Chem, 1989, 32: 1728-1732)。