

·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。

40 多年前我国发现了青蒿素,继之发明了青蒿琥酯、蒿甲醚和二氢青蒿素等药物,对全球范围的疟疾治疗,是一个划时代的变革与贡献,挽救了数以百万计患者的生命与健康。在特殊的历史时期以举国体制研制新药,决定了研发模式难以复制。研究者在大海捞针式的筛选试验中,屠呦呦等从传统医药典籍中受到启发,首先发现分离出青蒿素并确定了它的抗疟活性,功不可没,开创了青蒿素药物治疗的新领域,因而她获得 2015 年诺贝尔医学或生理学奖,当之无愧。接续的研究与开发,在结构确证、化学合成、结构优化、工艺研究和临床研究等各个环节,我国科学家同样做出了卓越贡献,成就了由青蒿素演化成临床新药—青蒿琥酯、二氢青蒿素和蒿甲醚,并在全球范围应用,在抗疟药物中占据着中心地位。本文拟从化学和药物化学视角,阐述从青蒿到发现青蒿素,从青蒿素的发现到发明蒿甲醚和青蒿琥酯等药物的简要历程。(编者按)

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2015-1036

青蒿素类抗疟药的研制

郭宗儒

(中国医学科学院药物研究所,北京 100050)

1 青蒿素的研究背景

1.1 举国体制研究抗疟药物

20 世纪 60 年代美国发动侵略越南战争,当地疟疾肆虐,疟原虫对已有药物产生耐药,使战斗力严重减弱。应越南要求中国提供有效抗疟药物,我国政府决定全国范围研究新型抗疟药,遂于 1967 年 5 月 23 日成立了研究协作组,简称“523 任务”,涵盖 60 多个研究单位,500 多位研究人员。在由启动研究到临床实验和应用的整个研发过程,统一由“523 任务”调度,并非固定在一个研究单位中(张文虎. 创新中的社会关系: 围绕青蒿素的几个争论. 自然辩证法通讯. 2009, 31: 32-39)。

1.2 从中药和民间药寻找药物或先导物

在“523 任务”的诸多研究项目中,有一个课题是“民间防治疟疾有效药物疗法的重点调查研究”,这个研究小组获得了许多苗头,例如从植物鹰爪分离出有效抗疟单体鹰爪甲素,从陵水暗罗中分离出暗罗素的金属化合物,对常山乙碱的结构改造,以及青蒿素等。

1.3 青蒿和青蒿素的发现

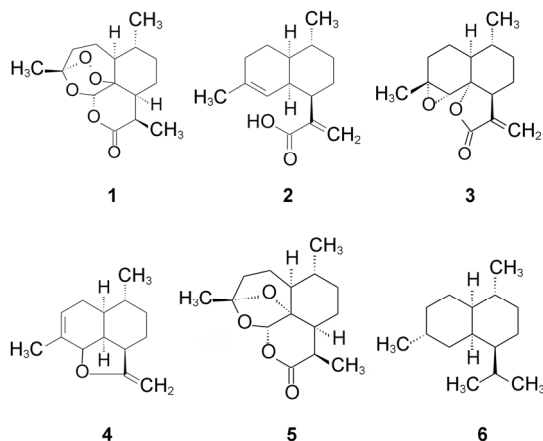
1969 年中国中医研究院中药研究所加入“中医

中药专业组”。组长屠呦呦和组员余亚纲等从中医药古籍中搜集并筛选中草药单、复方数百种中,余亚纲和顾国明发现青蒿呈现高频率(唐宋元明的医籍、本草和民间都曾提到有治疟作用)。通过广泛实验筛选,聚焦到青蒿的乙醇提取物,对疟原虫抑制率达到 60%~80%,虽然活性重复性差,但为后来研究提供了有价值的参考(李国桥等. 青蒿素类抗疟药. 北京: 科学出版社, 2015: 3)。

屠呦呦从东晋葛洪《肘后备急方》阐述青蒿的用法得到了启发,“青蒿一握,以水二升渍,绞取汁,尽服之”,冷榨服用“绞汁”,悟出可能不宜高温加热的道理,并考虑到有效成分可能在亲脂部分,遂改用乙醚提取,于 1971 年 10 月在去除了酸性成分的中性提取物中,分离得到的白色固体对鼠疟原虫的抑制率达 100%。由绞汁联想低温提取,但由水浸的冷榨液(通常含有水溶性成分)怎样推论是脂溶性成分,文献中无从考证。不过选择乙醚为萃取剂,无疑是发现青蒿素、开辟青蒿素类药物治疗的关键一步。

用乙醚从黄花蒿分离出的倍半萜化合物除青蒿素(1, artemisinin)外,还鉴定了其他成分,有青蒿

酸 (2, arteannuic acid)、青蒿甲素 (3, arteannuin A)、青蒿乙素 (4, arteannuin B)、青蒿丙素 (5, arteannuin C) 和紫穗槐烯 (6, amorphane) 等。这些倍半萜除 2 是酸性化合物外, 都是中性成分, 色谱柱分离单体后确证了结构, 但没有或只有很弱的抗疟活性 (屠呦呦, 倪慕云, 钟裕容等. 中药青蒿化学成分的研究. 药学报, 1981, 16: 366-370)。



2 确定青蒿素的化学结构

2.1 青蒿素的一般性质

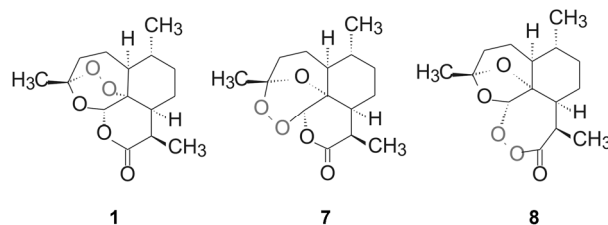
青蒿素为白色针状结晶, 熔点 151 ~ 153 °C, 元素分析和质谱表明分子式为 $C_{15}H_{22}O_5$, 不溶于水, 溶于丙酮、乙醇、乙醚、石油醚和碱性水溶液中, NaOH 溶液滴定可消耗 1 摩尔当量。定性分析可氧化 $FeCl_2$ 或 NaI 呈现颜色反应, 与三苯腈定量测定生成等摩尔量的氧化产物, 提示青蒿素含有氧化性官能基。

2.2 谱学行为

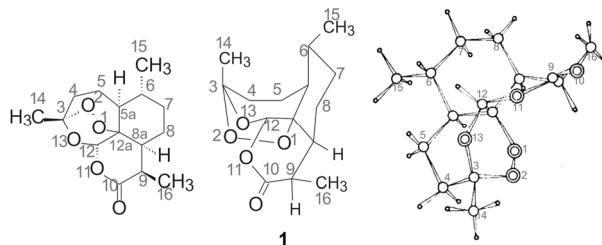
紫外光谱未显示有芳环的共轭体系, 红外光谱显示有 δ 内酯型的羰基峰, ^{13}C 核磁共振谱表明有 15 个 C 原子信号, 伯仲叔季碳分别为 3、4、5 和 3 个。其中一个季碳以羰基存在, 另两个峰在低场 79.5 和 105 ppm, 提示氧原子连于其上。在高场处的 5 个叔碳为二重峰。 1H 核磁谱在 5.68 ppm 处有单峰, 表明具有 -O-CH-O- 片段。从倍半萜的生源推测含有共用 4 个氧原子的缩酮、缩醛和内酯结构, 但难以归属第五

个氧原子。

彼时 (1975 年) 中国医学科学院药物研究所的 523 组于德泉报告了另一抗疟活性成分鹰爪甲素的结构, 是含有过氧键的化学成分 (梁晓天, 于德泉, 吴伟良等. 鹰爪甲素的化学结构. 化学学报, 1979, 37: 215-230), 这对测定青蒿素结构以巨大启示, 结合定性分析的氧化性, 联想青蒿素结构中也含有一个过氧键。推测有以下 3 种可能 (1, 7, 8)。



确定该过氧键所处的位置, 是中国科学院生物物理研究所的 523 组经 X-射线晶体衍射分析, 进而经旋光色散 (ORD) 分析, 最终确定了青蒿素的化学结构和绝对构型 (中国科学院生物物理所抗疟药青蒿素协作组. 青蒿素晶体结构及其绝对构型. 中国科学, 1979, (11): 1114-1128; 刘静明, 倪慕云, 樊菊芬等. 青蒿素 (arteannuin) 的结构和反应. 化学学报, 1979, 37: 129-142; 青蒿素结构研究协作组. 一种新型的倍半萜内酯——青蒿素. 科学通报, 1977, 22: 142)。



2.3 化学反应对青蒿素结构的佐证

青蒿素在 $Pd/CaCO_3$ 催化下氢化, 将过氧键还原成醚键, 生成的产物命名为还原青蒿素, 推测反应机制如图 1, 还原青蒿素的结构与天然存在的青蒿丙素 (5) 结构相同。

低温下青蒿素与 $NaBH_4$ 反应, 将 C_{10} 的羰基还原

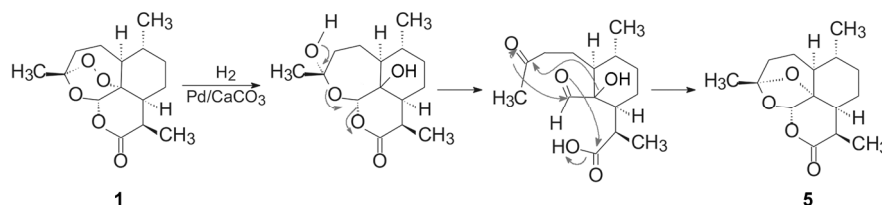
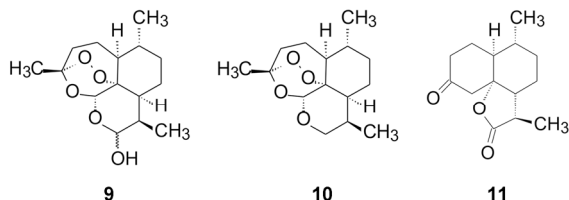


图 1 还原青蒿素的生成机制

成以半缩醛形式存在的羟基化合物 (9), 称作二氢青蒿素。但在 Lewis 酸存在下, 用 NaBH_4 处理, C_{10} 羰基还原成亚甲基化合物 (10); 在乙酸-硫酸作用下, 发生失碳和重排, 生成化合物 11。生成 11 的反应历程如图 2 所示。



2.4 青蒿素的全合成: 结构的确定

我国首先实现青蒿素全合成的是上海有机化学研究所许杏祥等由青蒿酸 (2) 为起始物完成的。基于生源原理, 2 应是青蒿素的生物合成前体, 黄花蒿中 2 的含量较高也是个佐证。图 3 是合成路线的简要过程。青蒿酸 2 经酯化得 2a, 硼氢化钠将环外双键还原成 2b, 臭氧氧化开环, 得到单环的醛酮物 2c, 酮基选择性用丙二硫醇保护, 得 2d, 2d 的醛基用原甲酸三甲酯处理得到烯醇醚 2e, 去除硫醚保护基的 2f, 经 O_2 光氧化得到关键中间体缩醛过氧化物 2g, 酸水解

2g, 发生级联的关环反应, 形成过氧桥环、环醚和内酯环, 生成青蒿素 1 (Xu XX, Zhu J, Huang DZ, et al. Studies on structure and syntheses of artenuin and related compound. 10. The stereocotrolled synthesis of artenuin and deoxy artenuin from arteneuic acid. Acta Chim Sin (化学学报), 1983, 41: 574-576)。与此同时, Schmid 和 Hofheinz 以不同的合成方法也完成了青蒿素的全合成 (Schmid G, Hofheinz W. Total synthesis of Quinghaosu. J Am Chem Soc, 1983, 105: 624-625)。以后又陆续报道了不同的合成路线和改进方法。青蒿素全合成的成功, 是对化学结构的最终确证, 也为实现工业化生产开辟了道路。

3 青蒿素的临床研究: 疗效的确定

3.1 最初的临床试验

屠呦呦研究组用乙醚提取的中性成分进行了动物安全性实验和健康志愿者试服后, 在海南和北京进行了 30 例患者的治疗, 虽然治愈率不高, 但证实有明确的抗疟作用。中性成分中含有屠呦呦研究组后来提纯的青蒿素 (当时称作青蒿素 II)。这意味着从物质基础到临床作用开创了青蒿素治疗疟疾的道路。

3.2 青蒿素的规模制备和临床疗效的确定

在醚提取物和初步疗效的启示下, 云南药物研

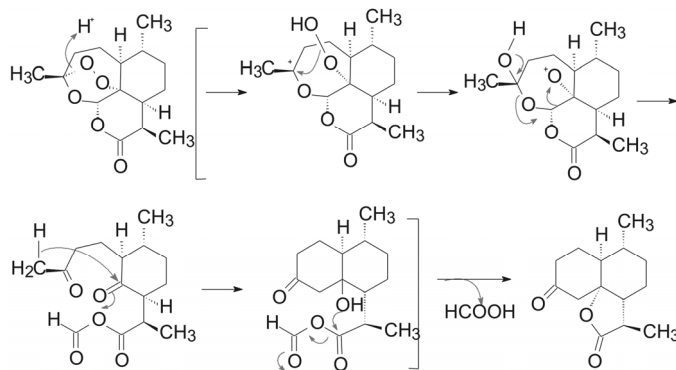


图 2 酸催化青蒿素失碳重排反应

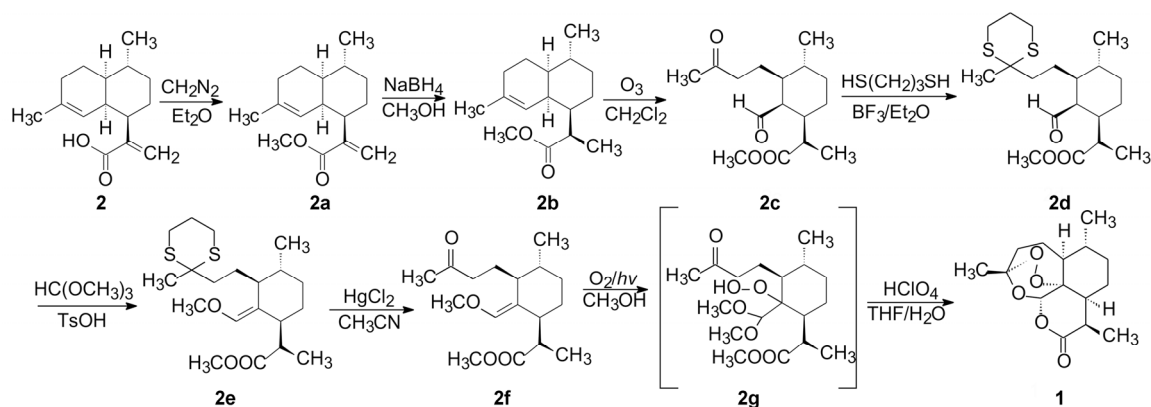


图 3 由青蒿酸为原料合成青蒿素的路线

究所罗泽渊等和山东中医药研究所魏振兴等用汽油或乙醚提取当地的黄花蒿,得到了纯度高的青蒿素,显著提高了抗疟效价。特别是罗泽渊等发明的“溶剂汽油法”,为提供临床研究和大规模生产奠定了技术和物质基础。

广州中医学院“523组”李国桥等在云南开展脑型疟防治研究,与提供临床用药的罗泽渊合作,进行了青蒿素的抗疟临床研究。他们给患者口服青蒿素(原称黄蒿素),发现恶性疟原虫纤细环状体停止发育并迅速减少的现象,认定青蒿素对恶性疟原虫的速杀作用远超奎宁和氯喹。治疗收治的18例患者,其中有1例脑型恶性疟、2例黄疸型恶性疟和11例非重症恶性疟,4例间日疟,全部迅速临床治愈,标志着首先临床证实青蒿素治疗恶性疟的疗效及其速效、低毒的特点,是对青蒿素临床应用价值的重要发现(张剑方. 迟到的报告——五二三项目与青蒿素研发纪实. 广州:羊城晚报出版社,2006)。

4 以青蒿素为先导物的结构优化

青蒿素为倍半萜,结构中5个氧原子交织形成环醚、过氧环醚、环状缩醛、环状缩酮和内酯。由于分子中缺乏助溶基团,因而水溶性低,而且脂溶性也不强。虽然中国药监部门于1985年批准为新药上市,但生物利用度和生物药剂学性质差,限制了青蒿素的临床应用。因而以青蒿素为先导物作结构优化是发展青蒿素类药物的必然趋势。研究青蒿素抗疟的作用机制由于相对滞后,结构优化是以表型变化和分析构效关系进行的。

4.1 过氧键的存在和特异的骨架支撑是重要的结构因素

用化学方法确定青蒿素结构,将过氧键转变成醚键、生成的还原青蒿素(5),经活性评价,完全失去了抗疟作用,参考有抗疟活性的鹰爪甲素也含有过氧键,推论过氧键应是必需的药效团;不过当筛选更多的过氧化合物,并非含过氧结构的分子都有活性,提示支撑过氧结构的分子骨架也有特异性贡献。因而青蒿素的优化以保存过氧键和分子骨架为前提,设计合成其衍生物。

4.2 我国研制的青蒿素类药物:蒿甲醚

在证明结构的化学反应中,用 NaBH_4 还原青蒿素的酯羰基,得到半缩醛化合物二氢青蒿素(9),抗疟活性强于青蒿素一倍,提示变换内酯基团仍可保持并提高活性。为了提高化合物的抗疟活性和稳定性,李英等从化合物9出发合成二氢青蒿素的3类衍生物。

4.2.1 C_{10} 醚类化合物 二氢青蒿素在 BF_3 -乙醚催化

下与醇反应生成缩醛醚(通式12),产物为一对差向异构体(α 、 β -异构体),是稳定的化合物,主产物为 β 构型。醚化合物分离成 α 和 β 单体对鼠疟(*Plasmodium berghei*)抗氯喹原虫株作活性评价,以青蒿素为阳性对照,测定抑制90%原虫的所需剂量(SD_{90})。表1列出了有代表性的 C_{10} 含醚基的化合物的活性。

表1 C_{10} 醚类化合物的结构及其活性

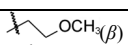
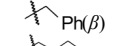
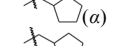
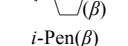
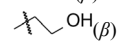
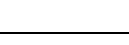
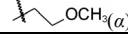
12			12		
化合物	R (C_{10} 构型)	$\text{SD}_{90}/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	化合物	R (C_{10} 构型)	$\text{SD}_{90}/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
9	H	3.65	17b		4.10
13a	$\text{CH}_3(\alpha)$	1.16	18		3.42
13b	$\text{CH}_3(\beta)$	1.16	19a		6.40
14	Et(β)	1.95	19b		4.70
15	n-Pr(β)	1.70	20		5.60
16	i-Pr(β)	2.24	21		>44
17a		2.28	1	青蒿素	6.20

表1的数据提示,二氢青蒿素(9)的活性大约强于青蒿素1倍,甲醚化合物(13)的抗疟活性强于二氢青蒿素2倍。醚基的R烷基增大,活性降低;羟乙基醚化合物21没有活性。 β 差向体的活性一般略高于相应的 α 差向体。R为 CH_3 的化合物13活性高于其他烷基取代,13称作蒿甲醚。

4.2.2 C_{10} 酯类化合物 二氢青蒿素9在吡啶介质中与酸酐、酰氯或氯代甲酸酯反应得到 C_{10} 酯类化合物(通式22),生成的羧酸酯为单一的 α 差向体。与氯代甲酸酯反应得到 C_{10} 碳酸酯也以 α 差向体为主,温度稍高,产生少量 β 体。

表2列出了二氢青蒿素的单酯和碳酸酯化合物的活性。这些酯类化合物的活性一般都比较低,并由此得到了如下的活性次序:碳酸酯>羧酸酯>醚化合物>二氢青蒿素>青蒿素(李英,虞佩林,陈一心等. 青蒿素类似物的研究. I. 还原青蒿素醚类、羧酸酯类和碳酸酯类衍生物的合成. 药学报, 1981, 16: 429-439; 顾浩明, 吕宝芬, 瞿志祥. 青蒿素衍生物对伯氏疟原虫抗氯喹株的抗疟活性. 中国药理学报, 1980, 1: 48-50)。

此外虞佩林等合成了9的取代苯甲酸酯化物,除化合物32的活性强于青蒿素10倍外,其余含硝基或卤素的衍生物活性一般(虞佩林,陈一心,李英等. 青蒿素类似物的研究. IV. 含卤素、氮、硫等杂原子

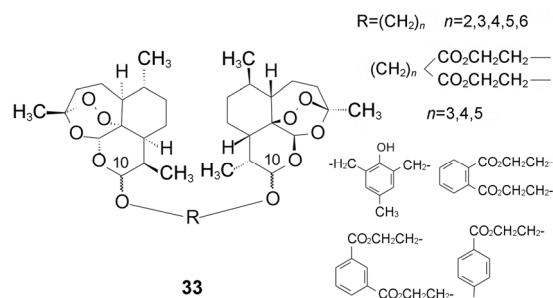
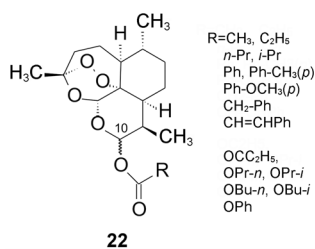
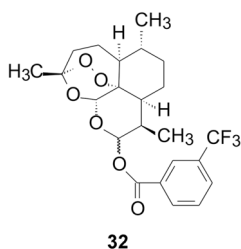


表 2 二氢青蒿素的单酯和碳酸酯化化合物的活性

化合物	R (C ₁₀ 构型)	SD ₉₀ / mg·kg ⁻¹	化合物	R (C ₁₀ 构型)	SD ₉₀ / mg·kg ⁻¹
23	CH ₃ (α)	1.20	29a	OEt(α)	0.63
24	Et(α)	0.66	29b	OEt(α+β)	0.57
25	n-Pr(α)	0.65	30a	OPr(α)	0.50
26	Ph(α)	0.95	30b	OPr(β)	1.32
27	Ph-CH ₃ (p)(α)	1.73	31	OPh(α+β)	0.63
28	Ph(α)	0.74	9	H	3.65

的青蒿素衍生物的合成. 药学学报, 1985, 20: 357–365; China Cooperative Research Group on Qinghaosu and Its Derivatives as Antimalarials. The chemistry and synthesis of Qinghaosu derivatives. J Tradit Chin Med (Eng Ed), 1982, 2: 9–16)。



4.2.3 双醚类化合物 陈一心等用二元醇连接二氢青蒿素, 设计合成了双二醚 (通式 33), 目标物的 C₁₀ 构型为 α,β 或 β,β 连接。活性评价表明均弱于单甲醚 (即蒿甲醚) [陈一心, 虞佩林, 李英等. 青蒿素类似物浓度研究. VII. 双 (二氢青蒿素) 醚和双 (二氢脱氧青蒿素) 醚类化合物的合成. 药学学报, 1985, 20: 270–273]。

4.2.4 蒿甲醚—候选化合物的确定 上述二氢青蒿素的醚、羧酸酯和碳酸酯类衍生物中分别挑选出活性较高的 13 (β 差向体)、24 (α 差向体) 和 29 (α 差向体) 等 3 个化合物对伯氏疟原虫感染小鼠的治疗实验作进一步评价, 表 3 列出了这 3 个化合物与青蒿素和二氢青蒿素的活性数据。

表 3 提示这 3 个化合物对感染小鼠都有良好的治疗作用。进而评价对疟原虫感染食蟹猴的疗效, 和对小鼠、大鼠、家兔、犬和猴的安全性试验, 结合化合物的物化性质, 确定蒿甲醚 (artemether) 为候选化

表 3 优选的化合物的抗疟作用比较。a: 抑制 50% 疟原虫所需的剂量; b: 抑制 90% 疟原虫所需的剂量; c: 小鼠每日给药, 5 天后 50% 疟原虫转阴的最低剂量; d: 小鼠每日给药, 5 天后全部疟原虫转阴的最低剂量

化合物	SD ₅₀ ^a / mg·kg ⁻¹	SD ₉₀ ^b / mg·kg ⁻¹	CD ₅₀ ^c / mg·kg ⁻¹	CD ₁₀₀ ^d / mg·kg ⁻¹
13 (蒿甲醚)	0.60	1.00	1.22	1.80
24 (丙酸酯)	—	0.50	0.47	0.82
29 (碳酸乙酯)	0.32	0.66	0.76	0.91
1 (青蒿素)	—	6.2	—	25
9 (二氢青蒿素)	—	3.7	—	—

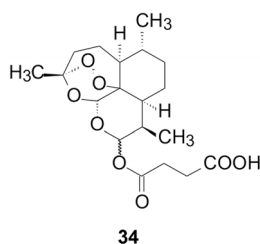
合物, 进入系统的临床前研究 (顾浩明, 刘明章, 吕宝芬等. 蒿甲醚在动物的抗疟作用和毒性. 中国药理学报, 1981, 2: 138–144)。1978 年开始临床研究, 并于 1987 年蒿甲醚以油针剂在我国批准为新药上市。

4.3 青蒿琥酯

为了提高青蒿素的水溶性, 便于注射用药, 桂林制药厂刘旭以二氢青蒿素为原料合成了 10 多个 C₁₀ 羧酸酯, 其中琥珀酸单酯 (代号 804) 经红外、核磁、质谱和 X-射线单晶衍射确定了结构, 其钠盐可溶于水, 适于注射给药。(刘旭. 青蒿素衍生物的研究. 药学通报, 1980, 15: 39; 濮金龙, 陈荣光, 蔡金玲. 青蒿素衍生物的结构测定. 广西药学会第二届年会学术讨论资料, P 82, 1979 年 10 月, 转引自“青蒿琥酯的研究与开发. 刘旭主编”, 桂林: 漓江出版社, 2010: 52–53)。

临床前研究表明, 青蒿琥酯 (34, artesunate) 有强效抗疟作用, 对于抗氯喹的鼠疟有杀灭作用, 青蒿琥酯钠对小鼠的 LD₅₀ 为 1003 mg·kg⁻¹, 家兔和犬的静脉注射亚急性毒性试验中, 对体重、食欲、血象、肝肾功能 and 心电图未显示明显影响。其钠盐 (静脉滴注前用碳酸氢钠溶液溶解) 静脉注射后, 在体内立即转化为二氢青蒿素。大鼠体内的血浆半衰期为 15.6 min。犬的血浆半衰期为 10~45 min。口服与静注青蒿琥酯后, 消除半衰期分别为 41.35 和 33.96 min。绝对生物利用度为 40%。经临床研究, 证明对间日疟、恶性疟和脑型疟均有效。1987 年国家批准为新药上市

(杨启超, 甘俊, 李培青等. 青蒿素衍生物—青蒿酯的抗疟活性与毒性. 广西药学院学报, 1981, (4): 1-6, 转引自“青蒿琥酯的研究与开发. 刘旭主编”, 桂林: 漓江出版社, 2010: 56-63)。

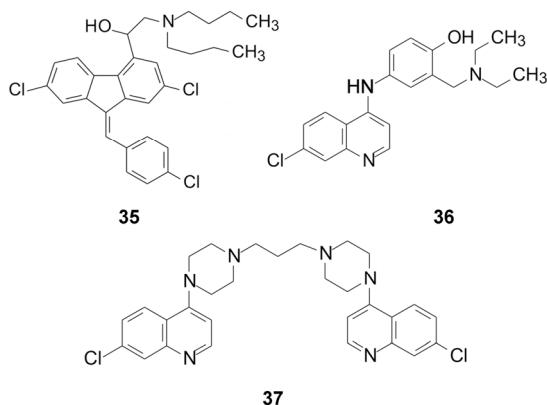


4.4 发挥速效强效弥补短效的药物组合—复方制剂

蒿甲醚和青蒿琥酯虽然高效和速效抑制多种疟原虫感染, 但在血浆中被迅速清除, 半衰期短, 以致患者体内的疟原虫不能完全清除而复燃。为此蒿甲醚、青蒿琥酯或二氢青蒿素常与其他长效的抗疟药合用, 即所谓的基于青蒿素固定剂量的组合疗法 (ACT)。有代表性的固定配伍制剂有:

复方蒿甲醚片, 是蒿甲醚 (13) 与本芴醇 (35, lumefantrine) 的固定制剂。本芴醇即是我国学者邓蓉仙等发明的抗疟药, 有长效的特点 (邓蓉仙, 余礼碧, 张洪北等. 抗疟药的研究 α -(烷氨基甲基)-卤代-4-芴甲醇类化合物的合成. 药学报, 1981, 16: 920-924)。1984 年由邓蓉仙、宁殿玺等研制组建的复方蒿甲醚片每片含蒿甲醚 20 mg、本芴醇 120 mg (李国桥等. 青蒿素类抗疟药. 北京: 科学出版社, 2015: 18)。经临床研究于 1992 年批准生产, 英文商品名 Coartem, 每日服用 1 次, 2002 年 WHO 将 Coartem 列入第 12 版“基本药品目录”。2009 年 FDA 批准在美国上市。

青蒿琥酯 (34) 与阿莫地喹 (36, amodiaquine) 的固定制剂, 称作青蒿琥酯阿莫地喹片, 每片含青蒿琥酯 100 mg、阿莫地喹 270 mg, 商品名 Coarsucum, 每日两次, 于 2007 年上市。



二氢青蒿素 (9) 与哌喹 (37, piperaquine) 的固定制剂, 含二氢青蒿素和哌喹分别为 20 mg 和 160 mg, 或 40 mg 和 320 mg 两种规格, 商品名 Eurartesim。

4.5 青蒿素类药物的作用机制

青蒿素类药物的抗疟作用是通过影响疟原虫的膜系结构和线粒体, 核膜和内网质出现肿胀和排列紊乱, 阻断原虫摄取营养而导致氨基酸饥饿, 同时迅速形成自噬泡并不断排出体外, 原虫损失胞浆而死。从化学和生化机制分析, 认为是通过血红蛋白的 Fe^{2+} 介导, 发生过氧键的裂解, 产生自由基而起作用。原虫裂殖子进入红细胞, 小滋养体的血红蛋白酶催化血红蛋白释放出血红素和 Fe^{2+} , 青蒿素在 Fe^{2+} 催化下过氧键裂解, 生成氧和碳自由基, 这些活性中间体抑制了消化液泡的生物膜和半胱氨酸蛋白酶。图 4 是青蒿素 (及其相关药物) 在铁离子催化下经自由基两种途径的反应历程, 生成的产物用方框标示 (Robert A, Dechy-Cabaret O, Cazelles J, et al. From mechanistic studies on artemisinin derivatives to new modular anti-malarial drugs. Acc Chem Res, 2002, 35: 167-174)。

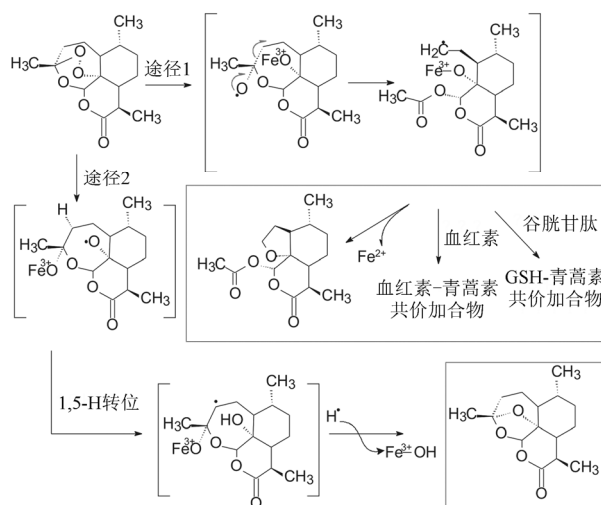


图 4 青蒿素 (类) 药物作用的生化机制

另有报道青蒿素的作用靶标是抑制了疟原虫 ATP 蛋白 6 (PfATP6), PfATP6 是 SERCA 类型的酶蛋白, 它通过消耗 ATP 来调节疟原虫胞浆内钙离子浓度, 保持钙水平的稳态。青蒿素类药物抑制 PfATP6, 从而引发疟原虫胞浆内钙离子浓度上升, 起到杀灭疟原虫作用。研究表明疟原虫通过 PfATP6 基因突变而出现青蒿素耐药现象也为以上机制提供了佐证 (Dondorp AM, Yeung S, White L, et al. Artemisinin resistance: current status and scenarios for containment. Nat Rev

Microbiol, 2010, 8: 272–280)。

5 其他青蒿素类抗疟药物的研究

5.1 蒿乙醚

蒿乙醚 (**14**, artemotil, 又称 arteether), 是二氢青蒿素 C_{10} - β -乙醚, 由荷兰 Brocacef 公司研发, 于 2000 年上市 (Brossi A, Venugopalan B, Dominguez Gerpe L, et al. Arteether a new anti-malarial drug: synthesis and anti-malarial properties. J Med Chem, 1988, 31: 645–650)。蒿乙醚以麻油制剂用于肌肉注射, 治疗恶性疟原虫感染患者。3~12 小时达到血浆峰浓度, 血浆半衰期为 1~2 天, 在肝脏经 CYP3A4 氧化脱乙基成二氢青蒿素。二氢青蒿素经葡萄糖苷化, 经胆汁排出。作为跟进性药物的蒿乙醚, 其疗效未显现优于蒿甲醚。

5.2 青蒿酮

拜耳公司与香港科技大学合作研发青蒿素类药物, 目标是改善既有药物的药代动力学。蒿甲醚、蒿

乙醚和青蒿琥酯等药物在血浆中迅速水解, 生成二氢青蒿素, 后者经葡萄糖苷化而被清除, 导致药效时间短。此外, 二氢青蒿素还有一定的神经毒性。为了延长作用时间, 减少二氢青蒿素的生成, 合成了有代表性的化合物 **38**~**45**, 评价了抗疟活性, 表 4 列出了这些化合物的物化和抗疟活性 (Haynes RK, Fugmann B, Stetter J, et al. Artemisone—a high active antimalarial drug of the artemisinin class. Angew Chem Int Ed, 2006, 45: 2082–2088)。

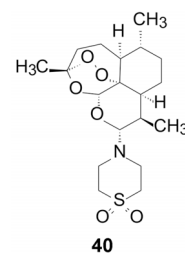
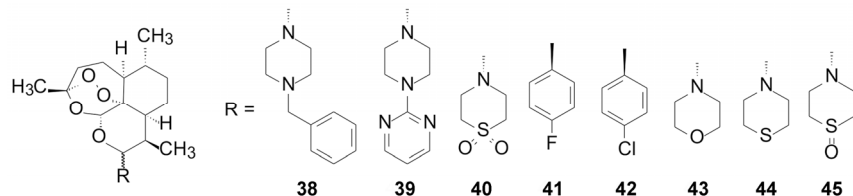


表 4 数据提示, 化合物 **38**、**39**、**41**、**43** 和 **44** 的活性很强, 但体外培养显示有神经毒性, 而且溶解性较差。**41** 和 **42** 引起小鼠不协调的步态。而 **40** 有良好的物化和药理性质, 进而大动物实验证实其安全和有效, 遂命名为青蒿酮 (artemisone) 进入临床研究, 现处于临床 II 期。

表 4 化合物 **38**~**45** 的结构、物化性质和抗疟活性。^[a]*P. berghei* 和 *P. yoelii* 感染小鼠后当天皮下注射或灌胃给药, 第 4 天测定外周血中的原虫计数, 计算 ED_{90} 。^[b] $ED_{90}(\text{青蒿琥酯})/ED_{90}(\text{受试化合物})$, 数值越高表示活性越强。^[c]对照药青蒿琥酯的活性在不同的实验中有变异



化合物	溶解度 /mg·L ⁻¹	log P 正辛醇/缓冲 液 pH 7.4	<i>P. berghei</i> ED ₉₀ /mg·kg ⁻¹ ^[a]		<i>P. berghei</i> 青蒿琥酯指数 ^[b]		<i>P. yoelii</i> ED ₉₀ /mg·kg ⁻¹ ^[a]		<i>P. yoelii</i> 青蒿琥酯指数
			皮下	经口	皮下	经口	皮下	经口	皮下
青蒿琥酯	565	2.77	7.2	7.1	1.0	1.0	22.0	—	1.0
38	8	5.62	0.8	3.5	9.0	2.0	0.85	3.0	25.9
39	<2	4.78	0.6	2.8	12.0	2.5	0.52	2.0	42.3
40	89	2.49	1.5	3.1	4.8	2.3	3.9	5.0	5.6
41	<1	5.59	1.16	5.0	6.2	1.4	1.08	—	20.4
42	<1	6.15	3.8	4.6	1.9	1.7	3.0	—	7.3
青蒿琥酯 ^[c]	565	2.77	4.6	9.3	1.0	1.0	42.0	—	1.0
43	28.4	3.05	0.18	1.3	25.6	7.15	1.25	1.84	33.6
44	<2	4.97	0.51	1.9	9.0	4.9	0.61	2.0	81.0
青蒿琥酯 ^[c]	565	2.77	12.0	—	1.0	—	50.0	—	1.0
45	1251	2.63	9.0	—	1.3	—	10.0	—	5.0
青蒿素	63	2.94	—	—	—	—	—	—	—
蒿甲醚	117	3.98	—	—	—	—	—	—	—

6 结语

青蒿素的发现和相关药物的发明,开创了治疗疟疾的崭新领域。我国科学家发明的青蒿素类的单药和复方制剂,成为国际上治疗恶性疟的标准药物,已拯救了数以百万计患者的生命。青蒿素的发现者屠呦呦因此获得了2015年诺贝尔医学或生理学奖。

青蒿素类药物被世界认可和巨大成功,是当年全国“523任务”组织了近千名化学、生药学、药物化学、药理学、毒理学、药剂学、临床医学、工艺研究和工业部门等科学技术人员的劳动成果,也与负责523任务的组织和行政管理(如张剑方、周克鼎等)的辛勤工作分不开的。研发过程是在“文革”的特定环境、物力和技术装备极其匮乏的条件下完成更显得不易。这种特殊的组织和实施模式在当今未必有示范和再现性,而且在知识产权保护和市场销售的份额上也留下了诸多遗憾,但无论如何这个对人类有重大贡献的研发历程,应当有个客观的科学评述。限于公开的原始资料的不足,本文只是从药物化学的视角简要地叙述了青蒿素类药物的发现发明过程。所幸当年的主要贡献者分别撰写的著作,再现了当时的

全息过程与场景,读者可以深入研究。重要的专著有:

李国桥,李英,李泽琳,曾美怡等编著. 青蒿素类抗疟药. 科学出版社,2015年,北京. 刘旭主编. 青蒿琥酯的研究与开发. 漓江出版社,2010年,桂林.

屠呦呦编著. 青蒿和青蒿素类药物. 化学工业出版社,2006年,北京. 张剑方著. 迟到的报告—五二三项目与青蒿素研发纪实. 羊城晚报出版社,2006年,广州.

具有特定结构骨架的青蒿素类药物,尚有巨大的研究空间:其作用靶标和抗疟机制有待深入揭示;改善药代和寻找针对耐受青蒿素原虫的新一代药物尚须继续努力。此外青蒿素的作用杂泛性也为研发其他治疗领域的药物提供了线索 (Crespo-Ortiz MP, Wei MQ. Antitumor activity of artemisinin and its derivatives: from a well-known antimalarial agent to a potential anticancer drug. J Biomed Biotechnol, 2012: Article ID 247597; Wang JX, Tang W, Zuo JP. The anti-inflammatory and immunosuppressive activity of artemisinin derivatives. Int J Pharm Res, 2007, 4: 336-340; 李洪军, 汪伟, 梁幼生. 双氢青蒿素抗寄生虫作用研究进展. 中国血吸虫病防治杂志, 2011, 23: 460-464)。