

# 根据青蒿素药效半衰期制订给药方案的探讨

李成韶 杜以兰

(山东省中医药研究所, 济南)

**提要** 为了降低用青蒿素治疗后疟疾的复燃率, 用鼠疟模型测定了青蒿素的药效半衰期, 并用两种不同给药方案进行了治疗实验。A 方案参照药效半衰期每 12 h 肌注总量的 1/6, 首次倍量; B 方案仿临床用法每隔 24 h 肌注总量的 1/3。A 方案各组与相应的 B 方案各组 3 天总量相等。共观察 3 个月。结果表明青蒿素药效半衰期为  $10.5 \pm 2.3$  h, A 方案治愈率较 B 方案提高 10~40%, 即在总剂量相等时, 适当缩短给药间隔时间, 可提高疗效。

**关键词** 青蒿素; 抗疟药; 伯氏疟原虫 ANKA 株

青蒿素 (Qinghaosu, Artemisinin) 系自中药青蒿 (*Artemisia annua* L.) 中提取出的一种新型抗疟药。动物实验及临床观察均已表明该药对红细胞内期疟原虫有迅速杀灭作用<sup>(1,2)</sup>, 对抗氯喹株恶性疟 (*Chloroquine-resistant falciparum malaria*) 也有较好疗效<sup>(3)</sup>, 但近期复燃率较高, 平均在 10% 以上。为了降低复燃率, 我们用鼠疟模型对青蒿素进行了药效半衰期的测定, 并依此结果设计了两种不同的给药方案进行平行对比实验, 试图为进一步制订临床用药方案作参考。

## 实验材料

青蒿素为我所青蒿素研究组供给之纯品, 用北京制药厂生产的注射用油配制成不同浓度供实验用。

疟原虫为伯氏鼠疟原虫 ANKA 株 (*Plasmodium berghei ANKA strain*), 系自上海寄生虫病研究所引种, 传代。

宿主为 20 g ♂ 性 Swiss 小白鼠。

## 实验方法

### 药效半衰期的测定

采用直接测定用药后不同时间的药效衰减率及  $SD_{50}$ 。补量, 两种不同的方法, 研究了青蒿素油溶液肌内注射的药效半衰期。

**1. 青蒿素肌注后不同时间药效衰减率的测定** 首先测定小鼠一次肌注青蒿素对鼠疟原虫预防性抑制实验的  $SD_{50}$ , 再以此剂量给另一批小鼠肌注, 测定注射后不同时间的药效衰减率。即仿 W. Peters 法<sup>(4)</sup>, 取接种后第 5 天的小白鼠做种源, 按无菌操作, 心脏穿刺采血, 肝素防凝, 以生理盐水稀释至含  $5 \times 10^7$  个感染红细胞/ml, 每鼠腹腔接种 0.2 ml。接种后将动物随机分 5 组, 前 4 组 (每组 5 只) 分别肌注不同浓度的青蒿素油溶液 0.2 ml, 第 5 组 (10 只) 肌注等容量的注射用油做对照。给药后第 4 天自尾部取血涂薄血膜 Giemsa 染色, 油镜下计数 1000 个红细胞中感染的红细胞数, 如连续检查 10000 个红细胞未发现疟原虫感染者视为阴性。将各组结果与对照组比较求出抑制率, 并按孙氏法<sup>(5)</sup>计算出预防性抑制实验的  $SD_{50}$ 。

和  $SD_{90}$ 。另取小鼠 50 只随机分 9 组。前 7 组 (每组 5 只) 分别于接种前第 20, 12, 10, 8, 6, 4, 2 h 各肌注青蒿素油溶液 10 mg/kg (接近  $SD_{90}$ )。第 8 组 (5 只) 于接种后立即肌注相同剂量的青蒿素为第 0 h 给药组, 第 9 组 (10 只) 仅肌注 0.2 ml 注射用油作对照。原虫接种方法同上。接种后第 4 日涂薄血片检查, 方法同上。以第 0 h 组的药效为 100%, 计算出给药后不同时间的药效衰减率, 再以时间为横座标, 以药效衰减率的机率单位为纵座标, 按直线回归法计算出药效半衰期。

**2.  $SD_{50}$  补量法<sup>(6)</sup>**按上法首先测定出青蒿素一次肌肉注射预防性抑制实验的  $SD_{50}$ 。另取小鼠 30 只, 肌注青蒿素 1 mg/kg 为基础量 (DF), 药后第  $9.5 \pm 0.1$  h 再以同样方法感染原虫, 并立即随机分组及肌注不同剂量的青蒿素, 求出给予基础剂量后第 9.5 h 的  $SD_{50}$  及药效存留率, 然后再按公式算出药效半衰期。

### 鼠疟治疗实验

按上法接种 80 只小鼠, 接种之日为  $d_0$ , 以后依次为  $d_1, d_2, d_3 \dots$ 。接种后第 3 天 ( $d_3$ ) 采血染色镜检。肯定各鼠均已产生原虫血症后, 将小鼠随机分 8 组, 每组 10 只。前 4 组按 A 方案治疗, 即各组分别肌注不同浓度的青蒿素油溶液, 每天上午 7 时及下午 7 时各一次, 每次 0.2 ml, 首次倍量, 连用 3 天 (共 5 次); 后 4 组按 B 方案给药, 3 天总量与对应的 A 方案组相同, 仅于每天上午 7 时肌注一次, 每次用总量的  $1/3$ , 其容量仍为 0.2 ml。停药次日 ( $d_7$ ) 再按上法采血镜检, 观察原虫转阴情况, 以后再于停药后第 7 天、第 15 天、第 30 天、第 45 天、第 60 天、第 75 天、第 90 天各复查一次观察原虫复燃情况, 连续 3 个月未见复燃并经转种实验阴性者视为治愈。

## 实 验 结 果

### (一) 药效半衰期的测定

**1. 预防性抑制实验** 5 组小鼠用药后第 4 天红细胞平均疟原虫感染率随用药剂量的增加而降低, 感染抑制率的机率单位与对数剂量呈正相关, 直线回归系数  $r$  为 0.9872 ( $P < 0.05$ )。按孙瑞元氏法算出  $SD_{50}$  和  $SD_{90}$  分别为 3.24 mg/kg 及 8.90 mg/kg (见表 1)。

Tab 1. The suppressive effect of Qinghaosu against ANKA strain of *P. berghei*

Dose (mg/kg)	Number of mice	Infective rate ( $\bar{X} \pm SD$ %)	Suppressive rate (%)	$SD_{50} \pm L_{95}$ (mg/kg)	$SD_{90} \pm L_{95}$ (mg/kg)
2	5	135.2 $\pm$ 15.5	28.1	3.24 $\pm$ 1.63	8.9 $\pm$ 4.3
4	5	81.0 $\pm$ 8.4	56.9		
8	5	15.0 $\pm$ 5.1	92.0		
16	5	5.6 $\pm$ 4.0	97.0		
Control	10	188.0 $\pm$ 10.7	—		

Note: 1.  $SD_{50}$  and  $SD_{90}$  are the 50% and 90% suppressive doses respectively. 2.  $L_{95}$  is 95% average confidence limit<sup>(7)</sup>

**2. 不同时间的药效衰减率** 青蒿素 10 mg/kg 肌注后 2~20 h, 药效衰减率随时间的延长而增加。以时间为横座标, 药效衰减率为纵座标绘图, 得一“S”形曲线, 转换为机率单位后呈一直线 (见图 1), 其直线回归系数  $r=0.9834$  ( $P < 0.01$ ),  $a=2.3718$ ,  $b \pm s_b=0.2501 \pm 0.0188$  由公式  $y=a+bx$  求出药效半衰期为 10.5 h, 其 95% 的可信限为 8.2~12.9 h, 其 95% 的平均可信限为  $10.5 \pm 2.3$  h。

**3.  $SD_{50}$  补量法结果** 首先求出青蒿素对鼠疟原虫预防性抑制实验的  $SD_{50}$  为 3.24 mg/kg (见表 1)。另取小鼠 30 只, 肌注青蒿素 1 mg/kg 后第  $9.5 \pm 0.1$  h, 再迅速感染原虫, 并立即随机分组, 肌注不同浓度的青蒿素, 每只 0.2 ml, 第 4 天原虫血症结果见表 2。按孙氏法算

Tab 2. Determination of SD<sub>50</sub>

Dose of Qinghaosu (mg/kg)	Mice of number	Infective rate ( $\bar{X} \pm SD\%$ )	Suppressive rate (%)	SD' <sub>50</sub> ± L <sub>05</sub> (mg/kg)
6.000	5	21.0 ± 8.8	87.4	2.69 ± 0.77
4.200	5	25.2 ± 4.7	84.9	
2.940	5	55.2 ± 12.9	67.0	
2.058	5	115.8 ± 30.3	31.0	
Control	10	167.1 ± 14.1	—	

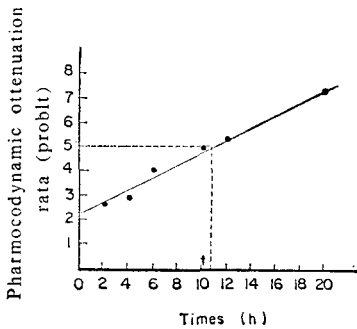


Fig 1. The relationship between pharmacodynamic attenuation rate and time after 10mg/kg Qinghaosu i. m.

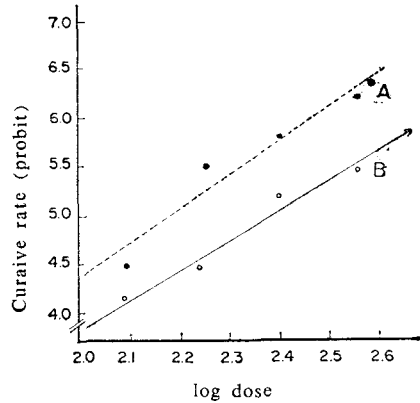


Fig 2. Comparison between the therapeutic efficacy of dose regimes A and B

出 SD'<sub>50</sub> 为 2.69 ± 0.77 mg/kg。药效存留率  $R_t = \frac{SD_{50} - SD'_{50}}{DF} = \frac{3.24 \text{ mg/kg} - 2.69 \text{ mg/kg}}{1 \text{ mg/kg}} = 0.55$ ； $t_{1/2} = \frac{0.301 \times 9.5 \text{ h}}{-\log 0.55} = 11 \text{ h}$

(二) 鼠疟治疗实验

治疗前(d<sub>3</sub>)全部小鼠出现原虫血症，治疗后(d<sub>7</sub>)原虫血症全部消失，连续观察3个月，A方案各组较相应的B方案各组治愈率分别提高10~40%。在A，B两方案中各组治愈率的机率单位均与其对数剂量呈正相关(见图2)，其相关系数分别为0.9586 (P<0.05)和0.9811 (P<0.05)。按孙氏法分别求出两方案疗效的斜率和50%，90%及95%的治愈剂量(CD<sub>50</sub>、CD<sub>90</sub>、CD<sub>95</sub>)。结果A方案的CD<sub>50</sub>、CD<sub>90</sub>、CD<sub>95</sub>分别较B方案减少29.4%、

Tab 3. The slope(b), CD<sub>50</sub>, CD<sub>90</sub>, CD<sub>95</sub> of dose regime A and B

Dose regime	b ± S <sub>b</sub>	CD <sub>50</sub> ± L <sub>05</sub> (mg/kg)	CD <sub>90</sub> ± L <sub>05</sub> (mg/kg)	CD <sub>95</sub> ± L <sub>05</sub> (mg/kg)
A	3.42 ± 1.50	161.36 ± 30.71	365.97 ± 105.89	460.75 ± 155.71
B	3.43 ± 1.35	228.45 ± 48.11	538.45 ± 172.28	685.27 ± 256.26
$(1 - \frac{A}{B}) \times 100\%$		29.4	32.0	32.8

32.0%、32.8%(见表3)。经t测验，两斜率无显著差异(t=0.04, P>0.05)，而两CD<sub>50</sub>、CD<sub>95</sub>差异显著(P<0.01)。从而表明A方案的疗效优于B方案。

## 讨 论

采用给药后直接测定不同时间的药效衰减率来计算抗疟药物药效半衰期的方法尚未见报导。我们在实验中发现,青蒿素油溶液肌肉注射后不同时间的药效衰减率与时间的关系呈一“S”形曲线,转换成机率单位后则成一直线,线性关系良好( $r=0.9834$ ;  $p<0.01$ ),重复实验两次结果基本一致。又以  $SD_{50}$  补量法对照,两法结果相近,且前者的可重复性较后者还好,因此认为此法是可行的。至于对青蒿素的其他剂型和给药方法,或其他抗疟药是否也能适用,尚待进一步研究。

由治疗实验结果看出, A、B 两方案的疗效均与剂量呈正相关,线性关系良好。t 测验看出 A、B 两条直线只是截距不同,斜率并无显著差异,即从总体看两条直线是平行的,从而表明这两种给药方案的结果具有可比性,同时也表明这两种给药方案对青蒿素疗效的影响,只有量的区别并无质的差异。由比较结果看出: A 方案治愈率较 B 方案提高 10~40%, 其 50% 及 95% 的治愈剂量 A 方案较 B 方案分别减少 29.4% 及 32.8%, 说明在总剂量相等时,适当缩短给药间隔时间,可提高疗效。

致谢 本文承蒙山东医学院吴葆杰教授及本所张培德、俞昌正副研究员指导

## 参 考 文 献

1. Qinghaosu Antimalaria Coordinating Research Group: Antimalaria studies on Qinghaosu. *Chin Med J* 92:811,1979
2. 青蒿素研究协作组: 抗疟新药青蒿素的研究. *药学通报* 14:49,1979
3. 广东海南青蒿抗疟临床研究协作组: 青蒿素治疗抗氯喹疟疾 65 例的疗效观察. *新医药杂志*(1):12,1979
4. Peters W: Drug resistance in *Plasmodium berghei* Vincke and Lips. *Exper Parasit* 17:80,1965
5. 孙瑞元: 简捷实用的半数致死量综合计算法. *药学报* 10:65,1963
6. 徐叔云等: 药理实验方法学, 第 1 版, 第 408 页, 人民卫生出版社, 北京, 1982

## RESEARCH ON THE DOSE REGIME OF QINGHAOSU ADMINISTRATION ACCORDING TO ITS BIOLOGICAL HALF-LIFE

LI Cheng-shao and DU Yi-lan

(Institute of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica of Shandong Province, Jinan)

### ABSTRACT

Qinghaosu (Artemisinin) is a new antimalarial drug extracted from the Chinese medicinal herb, Qing Hao (*Artemisia annua* Linn.). Animal experiments and clinical observations indicate that Qinghaosu is highly effective against erythrocytic parasite with low toxicity and marked effect on *falciparum* malaria resistant to Chloroquine. But, in the usual clinical dosage (0.3 g im qd for 3 days), its average recrudescence rate is more than 10%. In order to reduce the recrudescence rate, the biological half-life of the drug and therapeutic effect in mice infected with *Plasmodium berghei* ANKA strain were studied.

Two different methods were used for the determination of biological half-life of the drug: one was to examine the pharmacodynamic attenuation rate at different times after intramuscular injection, the other was to complement the  $SD_{50}$  (half suppressive dose). The results of the two methods were similar, i.e.  $10.5 \pm 2.3$  h and 11 h, respectively.

Two dose regimes of drug administration were compared:

1. Regime A: based on  $t_{1/2}$ , 1/6 of the total test dose of Qinghaosu was administered intramuscularly per 12 hours with the initial dose doubled. The course of the test was 3 days.

2. Regime B: referring to the dosage regime used clinically, i.e. 1/3 of the total dose was injected intramuscularly per 24 hours for 3 days. The total dose of the drug in regime B was the same as that in regime A.

After treatment the animals were observed for 3 months, the results demonstrate that dosage regime A was better than dosage regime B. The curative rate in regime A was 10~40% higher than that in regime B with the same dosage. The  $CD_{50}$  and  $CD_{95}$  of regime A were 29.4% and 32.8% lower respectively than those of regime B.

**Key words** Qinghaosu; Antimalarial drugs; *Plasmodium berghei* ANKA strain