



高等院校药学与制药工程专业规划教材

临床药理学 实验教程

COURSE OF CLINICAL
PHARMACOLOGY EXPERIMENTS

主 编 王 萍 周红宇
副主编 胡国新 胡爱萍



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS

浙江大学出版社

高等院校药学与制药工程专业规划教材

Course of Clinical Pharmacology Experiments

临床药理学实验教程

主 编 王 萍 周红宇

副 主 编 胡国新 胡爱萍



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS
浙江大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

临床药理学实验教程/王萍,周红宇主编. —杭州:浙江大学出版社, 2010.7

ISBN 978-7-308-07737-8

I. ①临… II. ①王…②周… III. ①药理学—实验—教材 IV. ①R965.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 123248 号

临床药理学实验教程

主编 王 萍 周红宇

丛书策划 阮海潮(ruanhc@zju.edu.cn)

责任编辑 阮海潮

封面设计 俞亚彤

出版发行 浙江大学出版社

(杭州市天目山路 148 号 邮政编码 310007)

(网址: <http://www.zjupress.com>)

排 版 杭州大漠照排印刷有限公司

印 刷 临安市曙光印务有限公司

开 本 787mm×1092mm 1/16

印 张 6.75

字 数 172 千

版 印 次 2010 年 7 月第 1 版 2010 年 7 月第 1 次印刷

书 号 ISBN 978-7-308-07737-8

定 价 18.00 元

版权所有 翻印必究 印装差错 负责调换

浙江大学出版社发行部邮购电话 (0571) 88925591

前 言

临床药理学实验是以临床药理学理论为基础,以健康志愿者和患者作为实验对象,通过临床药理学研究对新药的有效性与安全性作出科学评价,指导临床合理用药。通过临床药理学实验的教学,让学生注意理论与临床用药实践的紧密结合,培养学生分析问题、解决问题的能力;训练学生的操作技能,学习临床药理学研究的基本方法,加强学生科研意识和创新能力的培养,培养学生对科学工作严肃认真的态度和实事求是的作风。

本教材由临床药理学实验常用仪器、具体的实验项目和附录三部分组成,主要介绍了高效液相色谱仪的操作方法、血药浓度的测定方法、药代动力学参数的计算及意义、基因多态性测定方法和临床病例分析等。临床药理学实验开课时间不长,实验教学内容仍处于探索阶段,本教材内容设置以药学专业为主,尽可能考虑了多学科、多层次教学的需求,兼顾临床医学、检验、麻醉等专业的要求。

由于编委们在临床药理学实验教学方面的经验不够,认识水平有限,在实验内容的取舍、操作难易程度上难免会有不足,敬请专家和读者批评指正。本教材在编写过程中得到了领导和同事的大力支持,也参考了相关的书籍和文献,在此致以衷心的感谢。

编著者

2010年6月

高等院校药学与制药工程专业规划教材

《临床药理学实验教程》

编委会名单

主 编 王 萍 周红宇

副主编 胡国新 胡爱萍

编 委 (以姓氏拼音字母为序)

陈冰冰(温州医学院药学院药理教研室)

陈醒言(温州医学院基础医学院机能教研室)

胡爱萍(温州医学院药学院药理教研室)

胡国新(温州医学院药学院药理教研室)

李军伟(温州医学院药学院分子药理与毒理学研究所)

刘 萌(温州市药品检验所)

邱相君(河南科技大学医学院药理教研室)

王 萍(温州医学院药学院药理教研室)

周红宇(温州医学院药学院药理教研室)

目 录

第一部分 临床药理学实验常用仪器

绪 言	/ 3
仪器一 722S 型分光光度计	/ 5
仪器二 Agilent1100 系列高效液相色谱仪	/ 7
附 DAS 程序的使用：药代动力学参数计算	/ 14
仪器三 Bio-Rad 梯度 PCR 仪	/ 17
仪器四 ZY-300Ⅳ多功能微生物自动测量分析仪	/ 20
仪器五 BP-6 无创血压测量系统	/ 22
仪器六 心电图机	/ 23

第二部分 临床药理学实验

实验一 心理因素对心率和血压的影响	/ 27
实验二 安慰剂的药理效应	/ 28
实验三 药物临床试验的盲法设计	/ 31
实验四 硫酸镁药代动力学性质的研究	/ 34
实验五 CYP2C9 基因多态性对甲苯磺丁脲药代动力学的影响	/ 36
实验六 不同剂量酮康唑在家兔体内的药代动力学	/ 39
实验七 厄贝沙坦在兔体内的药动学-药效学结合模型	/ 41
实验八 乙酰化酶活性测定及乙酰化类型的分布	/ 44
实验九 药物的配伍禁忌	/ 46
实验十 药酶诱导剂和抑制剂对药物作用的影响	/ 47
实验十一 肾衰对磺胺嘧啶在兔体内药代动力学参数的影响	/ 49
实验十二 反相高效液相色谱法测定人血浆中劳拉西泮的浓度	/ 53
实验十三 反相高效液相色谱法检测人血浆中双氯芬酸钠的浓度	/ 55
实验十四 高效液相色谱法检测家兔血浆中氨茶碱的浓度	/ 57

实验十五 微生物法测定血浆红霉素浓度 / 59

附 微生物检定法简介 / 60

实验十六 红霉素血浆半衰期的测定 / 62

实验十七 反相高效液相色谱外标法检测血浆左氧氟沙星的浓度 / 64

实验十八 反相高效液相色谱内标法检测血浆氟康唑的浓度 / 66

实验十九 药物对动物实验性胃溃疡的保护作用 / 68

实验二十 高钾血症临床表现及中毒解救 / 70

实验二十一 沙蚕毒系农药的中毒及解救(二巯基丙磺酸钠拮抗杀虫单的肌松作用) / 72

实验二十二 病例讨论 / 73

第三部分 附 录

附录一 人和动物剂量的换算 / 81

附录二 赫尔辛基宣言 / 84

附录三 药物临床试验质量管理规范 / 88

附录四 知情同意书 / 97

参考文献 / 99

第一部分 临床药理学实验 常用仪器

绪 言

临床药理学是医学、药学、药理学及药物治疗学等多学科紧密结合的现代新兴学科,它以人体为对象,利用现代科学理论、现代技术研究药物在人体内的处置过程及与人体间相互作用的规律和机制,探讨临床用药的安全性、有效性,制定个体化剂量方案,减少药物不良反应和药源性疾病的发生。临床药理学的学科任务决定着它是一门实验科学,实验教学是临床药理学教学的重要组成部分,目的在于通过实验验证理论,巩固并加强对理论知识的理解;同时通过实验,使学生掌握临床药理学研究的基本方法和技能,培养对科学工作严肃的态度、严密的方法和严格的要求,培养根据客观实际分析问题和解决问题的能力,为今后进行科学研究打下基础。

一、临床药理学实验基本要求

临床药理学实验包括实验操作、整理分析并讨论实验结果、正确书写实验报告。

1. 遵守实验室规则,保持实验室安静、整洁;实验前后清点器材和仪器,如有损坏及时报告,及时更换;注意节约实验材料,爱护实验动物;注意安全。

2. 实验前应仔细阅读实验指导,做到心中有数。结合实验内容,复习理论知识。科研实验还应查阅有关文献资料,吸取他人经验。实验时严格要求,加强基本技能训练,培养独立操作能力。严格按照实验步骤进行操作,积极动手,分工合作,有条不紊地进行。耐心细致地观察实验过程中出现的各种反应,如实记录,切忌夹杂主观因素。坚持一丝不苟、严谨的科学作风。

3. 在实验中培养分析和综合概括问题的能力;掌握临床药理学研究方法;注意不同类型实验的特点。教学实验往往只有单一样本、单一方法;科研实验则应事先设计好样本数,随机分组,还应设置空白组与阳性对照组。

4. 实验结束应及时整理和总结实验结果,写出实验报告。

二、实验报告格式

实验报告内容应包括实验名称、目的、原理、材料(简略说明主要的仪器、药品和动物)、方法、结果、讨论及结论。科研实验报告还应有前言,说明课题来源及本实验要解决的问题;报告后应附有参考文献。

1. 实验条件应详细、明确,如仪器型号、试剂的浓度、药物的品种、浓度和剂量、给药途径、动物的来源、品种、体重、年龄、性别、如何分组等都应写出。

2. 实验方法可简明扼要地叙述,但关键环节必须写清楚。科研报告还可以引用文献上的方法,以节省文字。

3. 实验结果应根据实验获得的数据进行整理,对一个教学实验小组或全实验室的数据进行整理、归纳、分析和对比,尽量总结出各种图表,进行统计学处理。

4. 讨论部分包括实验结果的分析、思考题的探讨、实验设计、实验方法及实验过程中出现异常现象的分析、认识、体会和建议等。讨论应注意结合理论知识。科研报告还可对比前人的实验进行分析,阐明从本实验获得的新发现或者尚存在的问题。如非预期结果,要分析可能的原因。最后要有概括性总结,得出结论。

仪器一 722S 型分光光度计

722S 型分光光度计(图 1-1)是新一代微电脑的智能分光光度计,具有更宽广的光谱范围,包含了比色分析与生化及酶分析常用的 340~400nm 近紫外段和 800~1000nm 近红外段,适合分析化学工作者使用。



图 1-1

一、仪器原理

722S 型分光光度计的基本原理是溶液中的物质在光的照射激发下,产生了对光吸收效应,物质对光的吸收具有选择性,各种不同的物质都具有其各自的吸收光谱,因此当某单色光通过溶液时,其能量就会被吸收而减弱,光能量减弱的程度和物质的浓度有一定的比例关系,符合朗伯-比耳定律。

$$A = \lg(1/T) = KLC$$

式中: A 为吸光度; T 为透射比; K 为吸收系数; L 为溶液的光径长度; C 为溶液的浓度。

从公式可以看出,当吸收系数和溶液的光径长度不变时,吸光度是根据溶液的浓度而变化的,分光光度计就是根据上述物理光学现象设计而成的。

二、仪器结构

1. 显示窗: 数字显示屏显示各种情况下的数据。显示窗右边四个数字显示指示灯分别显示当前的测试方式,至上而下分别为透射比(T)、吸光度(A)、浓度因子(F)和浓度直读(C)

指示灯。

2. 调节模式按钮：共有 4 个触摸式按键，从左到右依次为“↑/100%”键、“↓/0%”键、功能键和模式键。

“↑/100%”键：调节透射率至 100%；

“↓/0%”键：调节消光为 0；

功能键：可将测试参数从 RS232C 口发送至上层 PC 机接收；

模式键：每按一次，依次显示透射比、吸光度、浓度因子、浓度直读，可按要求重复循环操作。

3. 波长调节旋钮：波长指示窗位于旋钮左侧，根据实验需要可设置所需波长。722S 型分光光度计波长范围在 340~1000nm。

4. 样品室：用于固定比色皿。内配置四槽位 1cm 吸收池架，样品室与外面拉杆相连。

5. 其他：如电源插座、熔丝座、电源开关、试样槽架拉杆等。

三、操作方法

1. 预热：打开样品槽盖，打开电源开关，预热仪器 20min。

2. 调节波长：旋转波长调节旋钮，选定所需波长。

3. 调零：打开样品室盖，按“0%”键，即能自动调整零位（当 T 灯亮时，屏幕应显示 000.0）。

4. 调整 100%T：将参比液和样品液装入比色皿，放入比色架中，盖上样品室盖，此时光路开启，使参比溶液置于光路中，调 100%T（当 T 灯亮时按键，屏幕应显示 100.0，或当 A 灯亮时按键，屏幕应显示 0.000）。

5. 测量：拉动拉杆，将待测液推入光路，读取吸光度值（A 灯亮时）。

6. 整理：仪器使用完毕，取出比色皿，洗净、晾干，关闭电源开关，拔下电源插头，复原仪器。

7. 登记使用记录。

四、注意事项

1. 仪器使用前需开机预热 20min。

2. 进行仪器校准。

3. 开关样品室盖时动作要轻缓。

4. 不要在仪器上方倾倒测试样品，以免样品污染仪器表面，损坏仪器。

5. 一定要将比色皿外部所沾样品擦干净，才能放进比色皿架进行测定。

6. 每次调整波长后，应重新调零和调 100%T。

（王 萍）

仪器二 Agilent1100 系列高效液相色谱仪

Agilent1100 系列高效液相色谱系统(图 1-2)是生产、科研领域较先进、使用较广的液相色谱系统,它提供给分析工作者以最为弹性的溶剂选择方式,最理想的自动分析方法,适应更广泛的领域的需求。配合自动进样系统又使 Agilent1100 成为多方法、大容量分析中较理想的解决方案。该系统主要由溶剂架、真空脱气单元、泵、进样器、柱温箱、检测器和电脑工作站组成(其中泵、自动进样器、检测器可根据需要进行选配),其主要用于有机分子和生物大分子的分离纯化和鉴定。

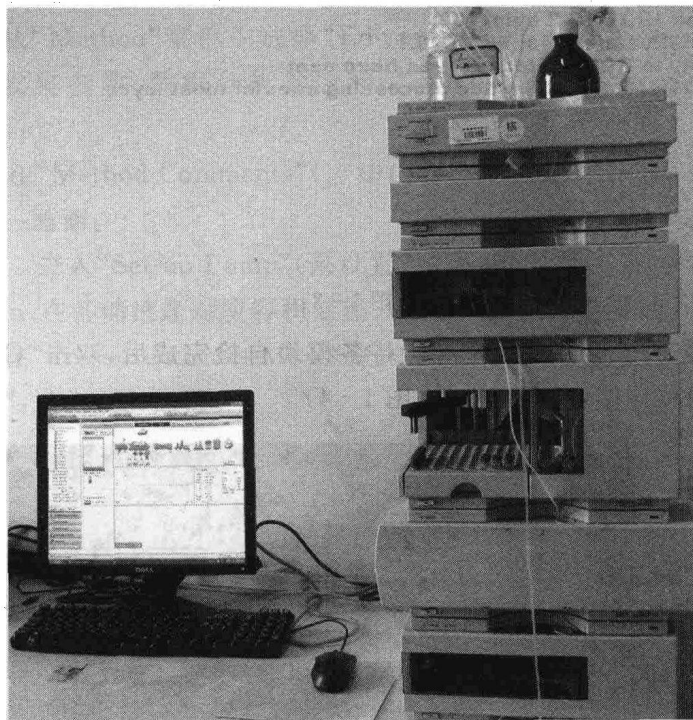


图 1-2

一、仪器原理

高效液相色谱仪(HPLC)由储液瓶、泵、进样器、色谱柱、检测器、数据处理系统等几部分组成。储液瓶中的流动相被高压泵打入系统,样品经预处理后经进样器进入流动相,被流动相载入色谱柱(固定相)内,由于样品溶液中的各组分在水相和有机相中具有不同的分配系数,在两相中做相对运动时,经过反复多次的吸附-解吸的分配过程,各组分在移动速度上产生较大的差别,被分离成单个组分依次从柱内流出,通过检测器时,样品浓度被转换成电信号传送到数据处理系统,处理后打印出图谱、数据以及报告。HPLC 所达到的高分辨率和高灵敏度,使分离和测定性质接近的物质成为可能,能够分离复杂物质中的微量成分。

二、操作方法

(一) 开机前准备

流动相使用前必须超声并过滤(流动相中有机相必须为色谱纯;水相必须用新鲜纯化水,且不能超过 3d,以免滋生菌类或藻类);各组流动相分别放入各储液瓶中。

(二) 开机

1. 打开计算机,进入 Windows 2000 画面,并运行 Bootp Server 程序(图 1-3)。

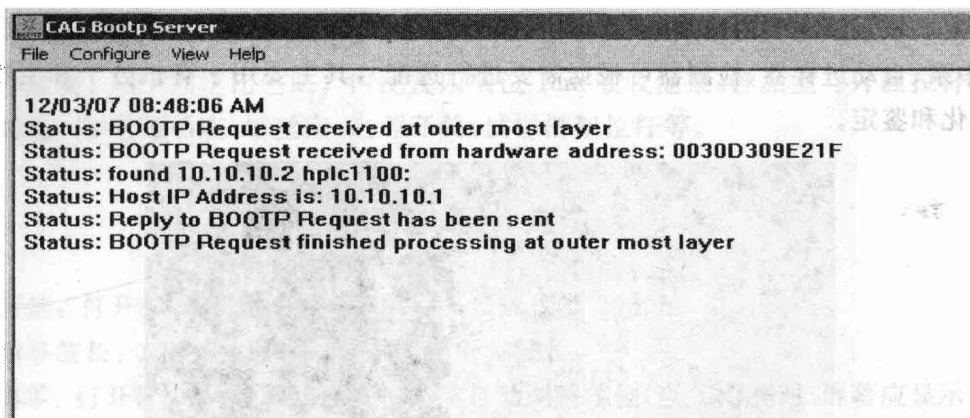


图 1-3

2. 打开高效液相色谱仪各模块电源。待各模块自检完成后,双击“Online”图标,化学工作站自动与液相色谱仪连接,进入工作站(图 1-4)。

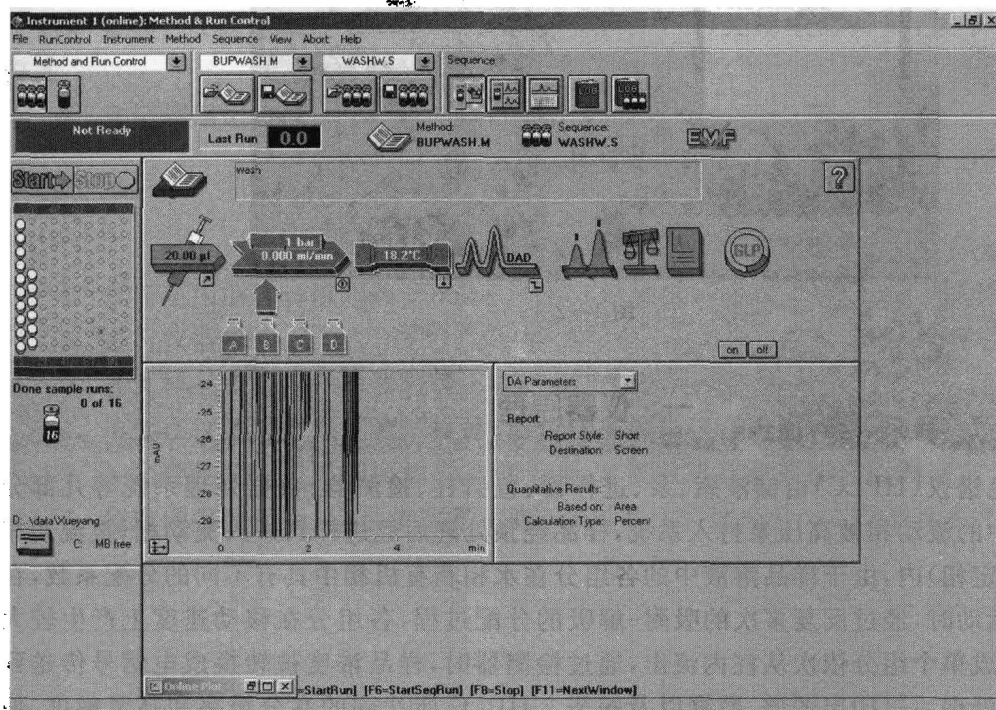


图 1-4

3. 工作站界面主要由以下几部分组成：

(1) 最上方为命令栏,依次为“File”(文件)、“RunControl”(运行控制)、“Instrument”(仪器)等；

(2) 命令栏下方为快捷操作图标,如多个或单个样品连续进样分析等；

(3) 中部为工作站各部件的工作流程示意图,依次为进样器、输液泵、柱温箱、检测器、数据处理、报告；

(4) 中下部为动态监测信号；

(5) 右下部为色谱工作参数：进样体积、流速、分析停止时间、流动相比比例、柱温、检测波长等。

4. 从“View”(视图)菜单中选择“Method and Control”(方法和控制)画面。

(三) 参数编辑方法

1. 开始编辑完整的方法：从“Method”(方法)菜单中选择“New method”(新方法),出现 DEF-LC. M,从“Method”菜单中选择“Edit entire method”(编辑完全方法),选择方法信息、仪器参数和收集参数、数据分析参数和运行时间表等各项,单击“OK”,进入下一画面。

2. 方法信息：在“Method Comments”(方法内容)中加入方法的信息,如方法的用途等。单击“OK”,进入下一画面。

3. 泵参数设定：进入“Set up Pump”(泵设置)画面(图 1-5),在“Flow”(流速)处输入流量,如 1.000mL/min;在各储液瓶对应容积处输入对应体积比,也可插入一行时间表,编辑梯度;输入保留时间;在“Pressure Limits Max”(最大压力限制)处输入柱子的最大耐高压,以保护柱子。单击“OK”,进入下一画面。

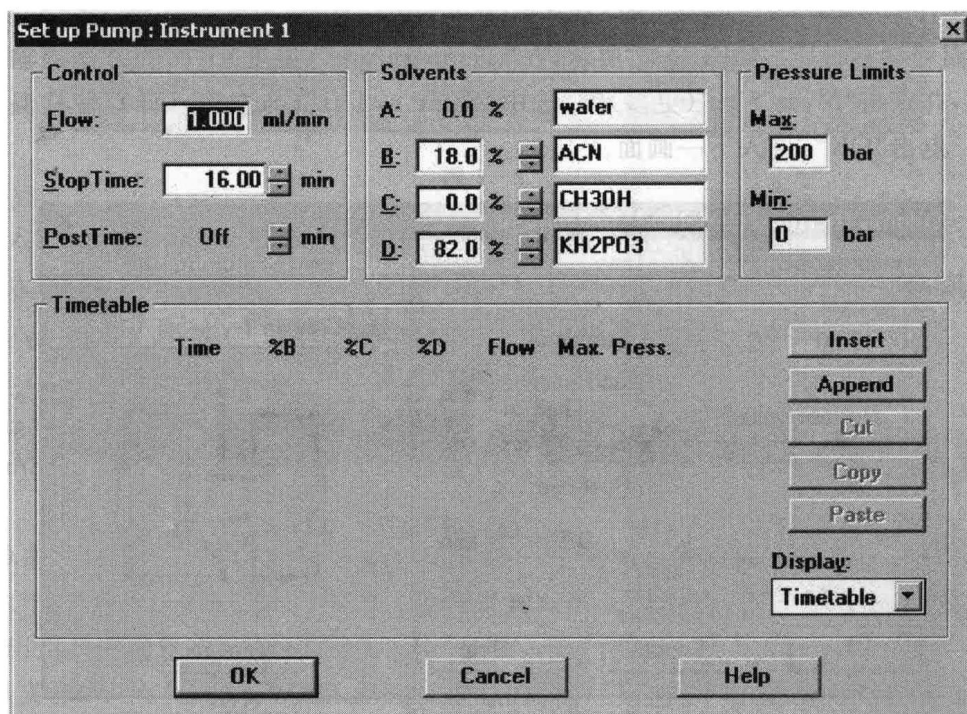


图 1-5

4. 自动进样器参数设定：若进样体积为 $1.0\mu\text{L}$ ，另设洗瓶位置。选择合适的进样方式(图 1-6)，“Standard Injection”(标准进样)模式——只能输入进样体积，此方式无洗针功能。“Injection with Needle Wash”(洗针进样)模式——可以输入进样体积和洗瓶位置，此方式从样品瓶抽完样品后，会在洗瓶中洗针。“Use Injector Program”(进样程序应用)可以点击“Edit”(编辑)键进行进样程序编辑。点击“OK”，进入下一画面。

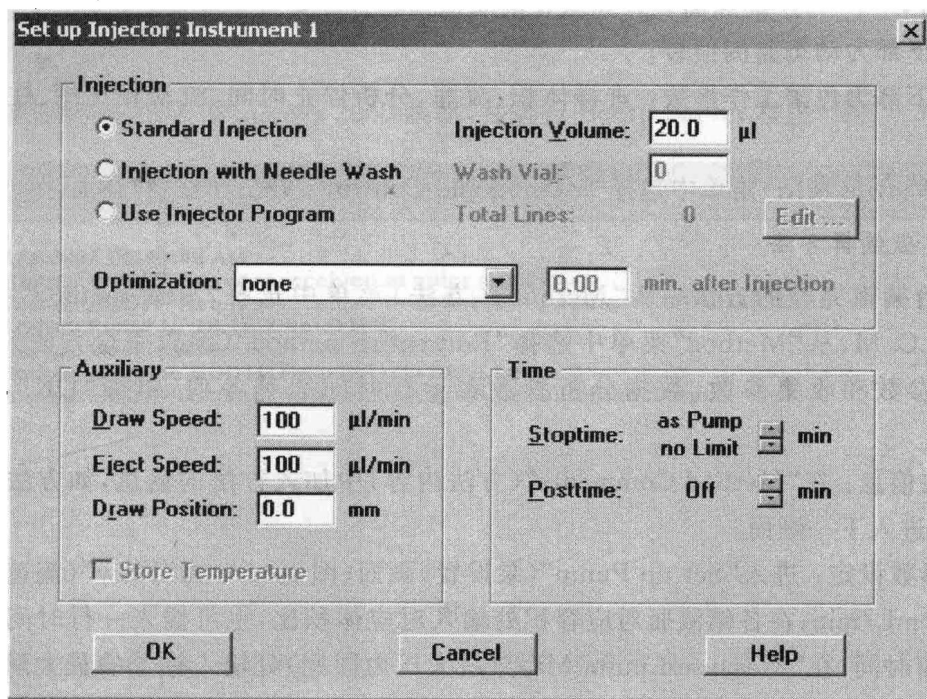


图 1-6

5. 柱温箱参数设定：如图 1-7 所示，在“Temperature”(温度)下面的方框内输入所需温度，选中它，并点击“More>>”(更多)键，选中“Same as left”(与左边一样)，使柱温箱的温度左右一致。点击“OK”，进入下一画面。

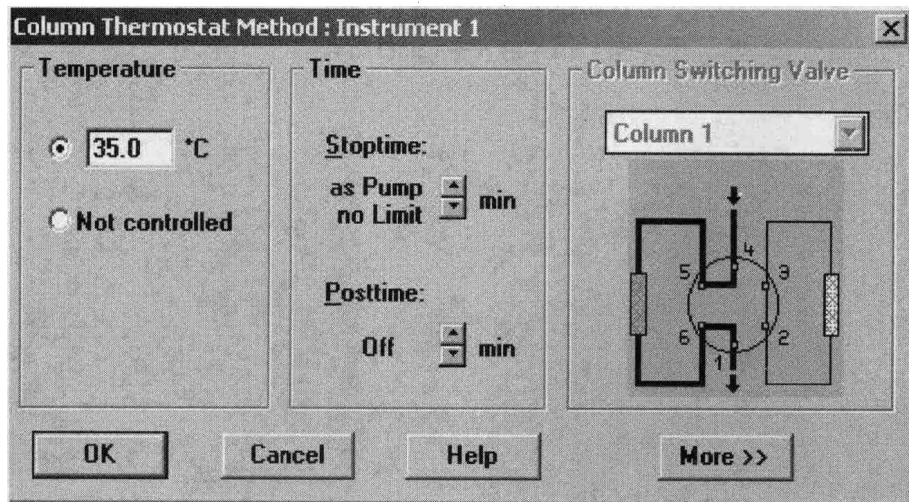


图 1-7