

# 药 理 学 实 验 指 导

主 编：包定元

副主编：宋裕南

编写单位与人员

华西医科大学：包定元 方治平 王静思

第三军医大学：宋裕南 李福涛 张乐之

重庆医科大学：周远大 周岐新 吴崇荣

泸州医学院：谢碧桃 刘毅

四川省卫干院：唐雨文 陈淑冰 李巧云

川北医学院：廖大宏 李蕊兴 胡冬伟

成都科技大学出版社

1990年 1月

# **药理学实验指导**

主编 包定元

---

成都科技大学出版社出版发行

四川石油管理局青年印刷厂印刷

---

787×1092毫米1/16 7.75印张 192千字

1990年元月第1版 1990年元月第1次印刷

印数1—10,000

ISBN 7-5616-0543-9/R·7

---

定价 2.35元

# 前 言

华西医科大学、第三军医大学、重庆医科大学、泸州医学院、四川省卫生管理干部学院、川北医学院等六所医学院校药理教研室(组)的同志们,为适应药理实验手段的不断更新和提高药理实验的教学质量,协力编写了本实验指导。

我们编写本书的宗旨是:切实面向教学,结合实际情况,在内容上不求全而求实用。本书以各医学院校的医学、口腔、卫生、药学、法医、中医等专业的本科和专科学生以及有关的职工医学院校、中等医、药学校、卫生学校的相关专业学生为对象。在内容的选择上,既有一定数量的验证性实验,以强化课堂理论知识,也有有关于代表药理学进展的新技术和新的先进仪器设备的操作使用实验内容,如受体的饱和结合及其竞争抑制,筒箭毒碱的神经肌肉阻断作用等。而且,为保证教学质量和实验效果并利于实验教学的顺利进行,每个实验均由编写者亲自实践过,并证明有可靠的重现性。考虑到各院校的仪器设备、动物供应等条件差异甚大,因此,对有些实验我们同时选编了几种不同的方法,如氯丙嗪对大鼠的激怒反应的影响选编了机械刺激和电刺激两种方法,利血平耗竭儿茶酚胺的作用,选编了肠段收缩抑制和荧光测定两种方法;传出神经系统药物对血压的影响采用了犬和大鼠两种不同的动物,等等,可根据实际条件情况进行选择。还考虑到在内容上不可能死板地确定每次的实验个数,所以,我们仍按药理学的系统顺序编列实验,并拟设药理学为学期课程,以每学期18周计,每周3学时,总计54学时。我们作如下的安排:药理学总论3周次;作用于外周神经系统药物3周次;作用于中枢神经系统药物3周次;作用于内脏器官药物4周次;激素类药物1周次;化学治疗药物2周次;急性毒性测定和未知药物药理检定1周次;药物剂型及处方1周次;共计18周次。每周次的实验内容,由各院校根据实际情况自行在该系统中进行选择组合。这样,既有一定的灵活性,又可防止本实验指导篇幅过大。此外,我们还附编了常用实验动物的选择,Casio fx-180P和fx-3600P计算器的使用及药理学中常用生物统计学参数等药理学实验基本知识,供参考。

本实验指导在编写过程中,除受到各编写院校药理教研室(组)领导的支持外,特别得到了华西医科大学药理教研室王浴生教授的具体指导及帮助,还得到了重庆医科大学药理教研室全钰珠教授的关怀及支持,在此一并表示衷心的感谢。

编写一本完全适应教学的实验指导,对我们来说是一个尝试,加之我们编写水平有限,书中一定会有很多不妥或错误之处,希望采用本实验指导的各兄弟院校教师、同学及读者们提出宝贵的意见,以利纠正。

《药理学实验指导》编写组

1989年8月4日

# 药理学实验须知

药理学实验的目的在于，通过实验培养学生严格的科学作风和严密的科学思维方法，使学生初步具备对客观事物进行观察、比较、分析、综合和解决问题的能力，同时，验证巩固和加深理解基本理论，使学生初步掌握药理学实验的基本方法。为此，必须注意下列几点：

1. 实验前必须认真仔细预习实验指导，对实验的目的、原理、方法和操作步骤必须充分领会，并复习药理学和与其有关学科的理论知识。

2. 实验中必须以严肃认真的态度对待实验，严格遵守操作规程，以严密的科学作风耐心地、客观地观察实验结果，并及时地仔细记录。整个过程要注意爱护仪器设备，爱护实验动物，不浪费试剂药品。

3. 实验完毕，须清洁仪器、处置实验动物，并对实验结果认真整理，分析思考，然后写出实验报告。报告应包括实验日期、题目、方法、结果、结论和讨论，书写力求语句精炼，内容扼要明确，讨论切题简要。

# 目 录

## 一、药理学总论.....(1)

- 实验1 药物的基本作用.....(1)
- 实验2 不同给药途径对药物作用的影响.....(1)
- 实验3 静脉注射速度对药物作用的影响.....(2)
- 实验4 剂型对药物作用的影响.....(2)
- 实验5  $pH$ 对药物吸收的影响.....(3)
- ▲实验6 肝脏功能对药物作用的影响.....(4)
- ▲实验7 肝脏匀浆对药物的转化作用.....(5)
- ▲实验8 血脑屏障对药物分布的影响.....(6)
- 实验9 全血水杨酸钠二室模型药动学参数测定.....(7)
- 实验10 受体的饱和结合及其竞争抑制试验(放射受体分析).....(10)

## 二、作用于外周神经系统的药物.....(21)

- 实验11 传出神经系统药物对兔唾液、瞳孔及胃肠平滑肌的作用.....(21)
- 实验12 传出神经系统药物对小鼠胃肠蠕动的影响.....(22)
- 实验13 传出神经系统药物对离体肠肌的作用.....(22)
- 实验14 传出神经系统药物对蛙腹直肌的作用.....(23)
- 实验15 传出神经系统药物对麻醉犬血压的影响及对受体作用的分析.....(24)
- 实验16 传出神经系统药物对麻醉大鼠血压的影响及对受体作用的分析.....(27)
- 实验17 有机磷药物的中毒及其解救.....(29)
- 实验18 有机磷药物中毒的解救和全血胆碱酯酶活性的测定.....(31)
- 实验19 筒箭毒碱的神经肌肉阻断作用.....(33)
- 实验20 用乙酰胆碱的量效曲线求其 $PD_2$ 及其拮抗剂(阿托品)的 $PA_2$ .....(35)
- 实验21 苯福林的 $PD_2$ 和哌唑嗪的 $PA_2$ 测定.....(38)
- 实验22 普鲁卡因对坐骨神经的传导阻滞作用.....(39)
- 实验23 局麻药的毒性比较.....(39)
- 实验24 丁卡因的腰麻作用.....(40)

## 三、作用于中枢神经系统的药物.....(41)

- 实验25 巴比妥类药物作用比较.....(41)

|      |                                  |      |
|------|----------------------------------|------|
| 实验26 | 苯巴比妥钠的抗惊厥作用(药物致惊法).....          | (42) |
| 实验27 | 苯妥英钠、苯巴比妥钠对抗电惊厥的作用.....          | (42) |
| 实验28 | 吗啡与复方氨基比林镇痛作用比较(热板法).....        | (43) |
| 实验29 | 哌替啶与罗通定的镇痛作用比较(扭体法).....         | (44) |
| 实验30 | 阿司匹林的解热作用.....                   | (45) |
| 实验31 | 氯丙嗪的镇静和镇吐作用.....                 | (46) |
| 实验32 | 氯丙嗪对小鼠正常体温的影响.....               | (46) |
| 实验33 | 氯丙嗪和氨基比林降体温作用的比较.....            | (47) |
| 实验34 | 氯丙嗪的降温作用.....                    | (47) |
| 实验35 | 氯丙嗪对大鼠激怒反应的影响(机械刺激法).....        | (48) |
| 实验36 | 氯丙嗪对小鼠激怒反应的影响(电刺激法).....         | (49) |
| 实验37 | 氯丙嗪的降低耗氧量作用.....                 | (50) |
| 实验38 | 氟哌啶醇对垂体后叶的影响及东莨菪碱的对抗作用.....      | (51) |
| 实验39 | 咖啡因对小鼠自发活动的影响(吊笼法).....          | (51) |
| 实验40 | 尼可刹米对抗吗啡的呼吸抑制与安定对抗尼可刹米引起的惊厥..... | (52) |

#### 四、作用于内脏器官的药物及激素类药物.....(54)

|      |                             |      |
|------|-----------------------------|------|
| 实验41 | 强心甙对离体蛙心的作用.....            | (54) |
| 实验42 | 强心药物对离体兔心的作用.....           | (55) |
| 实验43 | 利血平耗竭儿茶酚胺的作用(肠段收缩抑制法).....  | (56) |
| 实验44 | 利血平耗竭儿茶酚胺的作用(荧光测定法).....    | (57) |
| 实验45 | 抗心绞痛药物的抗缺氧作用.....           | (59) |
| 实验46 | 利多卡因对抗氯仿所致的小白鼠室性纤颤.....     | (60) |
| 实验47 | 组织胺等药物对离体气管的作用.....         | (61) |
| 实验48 | 氨茶碱的平喘作用.....               | (62) |
| 实验49 | 速尿的利尿作用.....                | (63) |
| 实验50 | 利尿药对兔尿量和尿中电解质浓度的影响.....     | (64) |
| 实验51 | 地塞米松的抗炎作用(大鼠后足容积测量法).....   | (66) |
| 实验52 | 氢化可的松的抗炎作用(鼠耳肿胀法).....      | (68) |
| 实验53 | 糖皮质激素对化学刺激性急性结膜炎的防治作用.....  | (68) |
| 实验54 | 胰岛素对兔血糖浓度的影响(邻甲苯胺法).....    | (69) |
| 实验55 | 胰岛素过量反应及其解救.....            | (70) |
| 实验56 | 环磷酰胺对巨噬细胞吞噬功能的影响(半体内法)..... | (71) |
| 实验57 | 缩宫素等药物对离体子宫的作用.....         | (72) |

#### 五、化学治疗药物.....(74)

|      |                    |      |
|------|--------------------|------|
| 实验58 | 胆汁中磺胺类药物含量的测定..... | (74) |
|------|--------------------|------|

|       |                                |        |
|-------|--------------------------------|--------|
| 实验59  | 磺胺药在体内的分布                      | ( 75 ) |
| 实验60  | 抗菌药的体外抑菌试验                     | ( 76 ) |
| 实验61  | 抗菌药物的体内抗菌实验                    | ( 78 ) |
| √实验62 | 青霉素G钾盐和钠盐快速静脉注射的毒性             | ( 79 ) |
| 实验63  | 肾功能改变对链霉素作用的影响                 | ( 79 ) |
| 实验64  | 硫酸链霉素的毒性反应与氯化钙的对抗作用            | ( 80 ) |
| 实验65  | 环磷酰胺 (CTX) 对细胞DNA合成的影响 (掺入细胞法) | ( 80 ) |

## 六、药物的急性毒性试验 ( 83 )

|      |                         |        |
|------|-------------------------|--------|
| 实验66 | 半数致死量 ( $LD_{50}$ ) 的测定 | ( 83 ) |
|------|-------------------------|--------|

## 七、未知药物的药理检定 ( 88 )

|      |              |        |
|------|--------------|--------|
| 实验67 | 利用肠肌标本鉴别未知药物 | ( 88 ) |
|------|--------------|--------|

## 八、药物剂型与处方学 ( 90 )

## 附录: 药理学实验基本知识 ( 95 )

|                                 |         |
|---------------------------------|---------|
| 一、常用实验动物的捉持法                    | ( 95 )  |
| 二、常用实验动物给药法                     | ( 95 )  |
| 三、常用实验动物取血法                     | ( 99 )  |
| 四、常用非挥发性麻醉药的剂量                  | ( 101 ) |
| 五、人和动物间按体表面积折算的等效剂量比值表          | ( 102 ) |
| 六、常用实验动物的一些生理常数                 | ( 102 ) |
| 七、常用实验动物的注射量和使用针头规格             | ( 103 ) |
| 八、常用生理溶液的成分和配制                  | ( 103 ) |
| 九、常用血液抗凝剂                       | ( 104 ) |
| 十、常用实验动物的选择                     | ( 104 ) |
| 十一、Casio fx1-80P、fx-3600P计算器的使用 | ( 106 ) |
| 十二、药理学中常用的生物统计学参数               | ( 111 ) |

# 一、药理学总论

## 实验1 药物的基本作用

**【目的】** 通过实验了解药物的兴奋作用与抑制作用，局部作用与吸收作用等。

**【器材】** 注射器（5ml×1）。

**【药品】** 5%盐酸普鲁卡因溶液，0.5%安定溶液，2%硫喷妥钠溶液。

**【动物】** 兔。

**【方法】**

1. 取兔1只，称其体重。先观察正常活动情况，如四肢站立和行走姿态，并用针刺其后肢，测试有无痛觉反射。

2. 由一侧坐骨神经周围（使兔作自然俯卧式，在尾部坐骨脊与股骨头间摸到一凹陷处）注入5%盐酸普鲁卡因溶液1ml/kg体重。2~3分钟后，观察和测试同侧后肢有无运动和感觉障碍，并与对侧相比较。

3. 待局部作用明显后，再肌肉注射5%盐酸普鲁卡因溶液1ml/kg体重，观察中毒症状（惊厥）出现与否。

4. 待出现明显中毒症状（惊厥）时，立即由耳缘静脉注射0.5%安定溶液0.5~1ml/kg体重（或2%硫喷妥钠溶液0.5~1ml/kg体重）至肌肉松弛为止。

**【结果】** 描述实验中的观察。

**【思考题】**

1. 本实验中，药物的兴奋作用与抑制作用、局部作用、吸收作用与选择作用表现在哪些方面？有没有观察到药物间的对抗作用？

2. 本实验中，哪些是普鲁卡因和安定的治疗作用？哪些是它们的不良反应？

## 实验2 不同给药途径对药物作用的影响

**【目的】** 观察不同给药途径对尼可刹米作用的影响。

**【器材】** 注射器（1ml×1），小鼠灌胃器，玻璃钟罩。

**【药品】** 5%尼可刹米溶液。

**【动物】** 小鼠。

**【方法】**

小鼠3只，称重，编甲、乙和丙。先观察正常活动，如呼吸、活动度和运动协调程度等。然后将甲、乙和丙鼠分别灌胃、皮下和腹腔注射5%尼可刹米溶液0.2ml/10g体重。观

察给药后各鼠是否出现兴奋、惊厥等症状，并记录出现症状的时间和小鼠的最终结局。

【结果】 将观察结果列表比较。

【思考题】 不同给药途径为什么会影响药物效应？

### 实验3 静脉注射速度对药物作用的影响

【目的】 了解给小鼠静脉注射相同剂量的氨茶碱，因注射速度不同可能产生不同的毒性差异。

【器材】 注射器（1ml×1），秒表，小鼠固定筒，小鼠笼。

【药品】 1.25%氨茶碱溶液。

【动物】 小鼠。

【方法】

取体重相近的小鼠4只，称体重，分为2组。按快（5~10秒钟）慢（4~6分钟）不同的速度尾静脉注射1.25%氨茶碱0.2ml/10g体重（250mg/kg体重），给药后观察两组小鼠反应的差异。

【注意事项】 尾静脉注射时，先将小鼠固定，露出鼠尾，将尾浸于50℃温水中使血管充分扩张，然后选取鼠尾左右侧静脉注射。

【结果】

| 序号 | 体重(g) | 剂量 | 注射速度 | 反应 |
|----|-------|----|------|----|
| 1  |       |    |      |    |
| 2  |       |    |      |    |
| 3  |       |    |      |    |
| 4  |       |    |      |    |

【思考题】 同一药物为何因注射速度不同产生作用的差异？

### 实验4 剂型对药物作用的影响

【目的】 观察不同剂型的戊巴比妥钠发生作用的差别，了解剂型对药物作用的影响。

【原理】 药物剂型的粘度与药物扩散速度成反比。

【器材】 小鼠灌胃器（1ml×2），钟罩，天平。

【药品】 0.25%戊巴比妥钠溶液，0.25%戊巴比妥钠胶浆液（用4%羧甲基纤维素钠配制）。

【动物】 小鼠。

【方法】

取小鼠2只，称重。甲鼠灌胃0.25%戊巴比妥钠溶液0.1ml/10g体重，乙鼠灌胃0.25%戊

巴比妥钠胶浆液0.1ml/10g体重。观察两鼠翻正反射消失时间。

### 【结果】

| 项 目<br>鼠 号 | 给 药 时 间 | 翻正反射消失时间 | 作用开始所需时间 |
|------------|---------|----------|----------|
| 甲          |         |          |          |
| 乙          |         |          |          |

【思考题】 剂型对药物作用有何影响？

## 实验5 pH对药物吸收的影响

【目的】 观察不同pH对氨基水杨酸（PAS）溶液吸收量的差异，了解pH对药物吸收的影响。

【器材】 小鼠灌胃器（1ml×2），离心管（5ml×4），试管（10ml×10），钟罩，小弯镊，刻度吸管，漏斗，分光光度计。

【药品】 10%三氯化铁混合液（10g三氯化铁用10%三氯醋酸配成100ml溶液），两种不同pH的5%PAS溶液（分别用0.03N盐酸溶液和0.5N碳酸氢钠溶液将20%PAS储备液稀释为5%PAS溶液），0.05%PAS标准液，生理盐水，肝素溶液（300u/ml）。

【动物】 小鼠。

### 【方法】

1. 取小鼠3只，称重，编号。1—2号小鼠分别灌服两种不同pH的PAS溶液0.3ml/10g体重，3号鼠灌服生理盐水0.3ml/10g体重。

2. 给药20分钟后，用弯镊摘除1—3号鼠眼球，分别收集流出的血液于盛有0.1ml肝素溶液的离心管中，并轻轻摇匀。

3. 取试管5只，编号，然后按下表顺序操作，每次加入试剂均应充分摇匀。

| 试 剂          | 管 号   |       |       |       |       |
|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|
|              | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     |
| 血液（全血）       | 0.4ml | 0.4ml | 0.4ml | —     | —     |
| 10%三氯化铁混合液   | 5.0ml | 5.0ml | 5.0ml | 5.0ml | 5.0ml |
| 0.05%PAS标准溶液 | —     | —     | —     | 0.4ml | —     |
| 蒸馏水          | —     | —     | —     | —     | 0.4ml |

4. 过滤1—3管，滤液在分光光度计上比色，波长用510nm，用蒸馏水调光密度至零，测1—5管光密度。PAS净光密度（ $D_4$ ）=  $d_4 - d_5$ ，测定管光密度  $D_s = d_s - d_5$ ，按下式计算各鼠血药浓度：

标准管PAS光密度 $D_s = d_4 - d_5$ ,

测定管PAS光密度 $D_n = d_n - d_3$ ,

测定管PAS浓度 $C_n = \frac{D_n}{D_s} \cdot 500 (\mu\text{g/ml})$ 。

### 【注意事项】

1. 正确固定小鼠体位, 保证药物灌入胃内。
2. 收集血液时应不断摇动离心管, 防止血液凝固。

【结果】 比较1—2号鼠血药浓度。

【思考题】 体液pH对药物转运有何影响?

## 实验6 肝脏功能对药物作用的影响

【目的】 观察肝脏功能损害和肝药酶诱导剂及抑制剂对戊巴比妥钠麻醉作用的影响。

【器材】 注射器(1ml×2), 玻璃钟罩。

【药品】 5%四氯化碳溶液, 0.4%苯巴比妥钠溶液, 0.4%戊巴比妥钠溶液, 0.8%氯霉素溶液, 花生油(或玉米油、橄榄油)。

【动物】 小鼠。

### 【方法】

取体重相近的小鼠5只, 称重, 编号。在实验前48小时, 1到4号鼠分别依次腹腔注射0.1ml/10g体重的5%四氯化碳溶液, 0.4%苯巴比妥钠溶液, 生理盐水和油溶剂。实验前1小时, 第5号鼠腹腔注射0.8%氯霉素溶液0.1ml/10g体重, 然后, 每鼠分别腹腔注射0.4%戊巴比妥钠溶液0.1ml/10g体重。记录各鼠翻正反射消失和恢复时间, 由此算出麻醉诱导时间和麻醉维持时间。

### 【注意事项】

1. 四氯化碳和氯霉素溶液宜用花生油、玉米油或橄榄油配制。
2. 处于麻醉状态下的小鼠对体温失去调节能力, 易受外界环境温度的影响。当室内温度低于20℃时, 小鼠体温明显下降、麻醉加深, 麻醉时间延长, 要注意保温。
3. 实验结果分析宜用全班各组平均值。

### 【结果】

| 组别          | 麻醉诱导时间(分) | 麻醉维持时间(分) |
|-------------|-----------|-----------|
| 生理盐水0.3     |           |           |
| 油溶剂         |           |           |
| 4%四氯化碳溶液    |           |           |
| 0.4%苯巴比妥钠溶液 |           |           |
| 0.8%氯霉素溶液   |           |           |

### 【思考题】

1. 各组小鼠麻醉诱导时间有无差异？为什么？
2. 根据实验结果，分析肝药酶有什么特点。

## 实验7 肝脏匀浆对药物的转化作用

**【目的】** 以肝脏匀浆对普鲁卡因的水解作用为例，学习用体外实验观察药物生物转化现象的基本方法。

**【原理】** 普鲁卡因在与肝脏匀浆共同温育的过程中，被肝微粒体中的“假性胆碱酯酶”水解为对氨基苯甲酸及二乙基氨基乙醇。显色剂对-二甲氨基苯甲醛能与普鲁卡因及对氨基苯甲酸反应而显现黄色，但不能与二乙基氨基乙醇反应和显色。用薄层层析法，测定并比较板上各个斑点的Rf值，即能分析肝脏对药物的生物转化作用。

**【器材】** 离心管，试管，移液管（1ml，2ml，5ml），0.5% CMC（羧甲基纤维素钠）-硅胶薄层板，层析缸，点样用毛细玻管，玻璃显色剂喷壶，内切式匀浆机，液体快速混合器，电动离心机。

**【药品】** 4%盐酸普鲁卡因溶液，10%三氯醋酸溶液，0.4%盐酸普鲁卡因和0.4%对氨基苯甲酸标准溶液，浓氨水，氯仿：甲醇：乙醇（2：2：3）展开剂，对-二甲氨基苯甲醛显色剂，pH7.4的0.1M磷酸缓冲液。

**【动物】** 小鼠。

### 【方法】

1. 制备肝脏匀浆：小鼠1只颈椎脱臼处死，剪开腹部，取出肝组织约1.5g，置于10ml离心管中，加pH7.4的磷酸缓冲液3ml，于内切式匀浆机上制成匀浆。

2. 制备混合液：取试管2支，以A、B编号，加入下述同样的物质：pH7.4磷酸缓冲液1.5ml，4%盐酸普鲁卡因溶液1ml，肝脏匀浆1.5ml，于液体快速混合器上混合均匀。将A管置38℃水浴中保温1小时（保温期间经常加以振摇），B管不予保温。

3. 制备去蛋白液：A、B两管离心（3000转/分）5分钟，将上清液转移至另2支编号的离心管中，分别加入10%三氯醋酸1ml，混匀后再次离心（同上条件）。所得上清液可供层析用。

4. 薄层层析：CMC-硅胶薄层板经110℃活化1小时，临用前以氨水熏约15分钟。取该板1块，按图1式样依顺序1—4点加下述样品：A管的去蛋白液、B管的去蛋白液、盐酸普鲁卡因标准液、对氨基苯甲酸标准液。点加样品时，可于前一次点加的液体干燥以后再次点加数次，以保证板上有足够的样品。将薄层板置于预先放有氯仿：甲醇：乙醇（2：2：3）溶剂系统的层析缸内，待展开剂上升至约8厘米时取出晾干，用对-二甲氨基苯甲醛试剂喷薄板面，使之显色，比较板面上各个斑点所处的位置，并测量出Rf值（图1）。

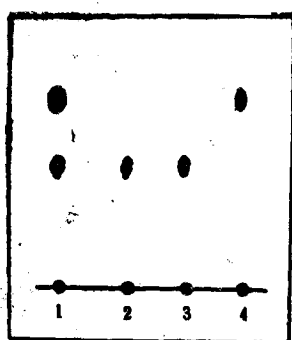


图1 盐酸普鲁卡因代谢物在展开板上的显色点

5.  $R_f$ 值的计算: 测量出从斑点中心至原点中心的距离 (cm), 以此距离除以展开剂前沿至原点中心的距离 (cm), 得到的比值即为该斑点的  $R_f$  值。

【结果】 绘出喷洒显色剂后薄层板上所出现的斑点图, 测量并计算出各点的  $R_f$  值。

【思考题】 根据实验结果阐述本次实验能说明什么问题?

【附】

1. 有关溶液的配制:

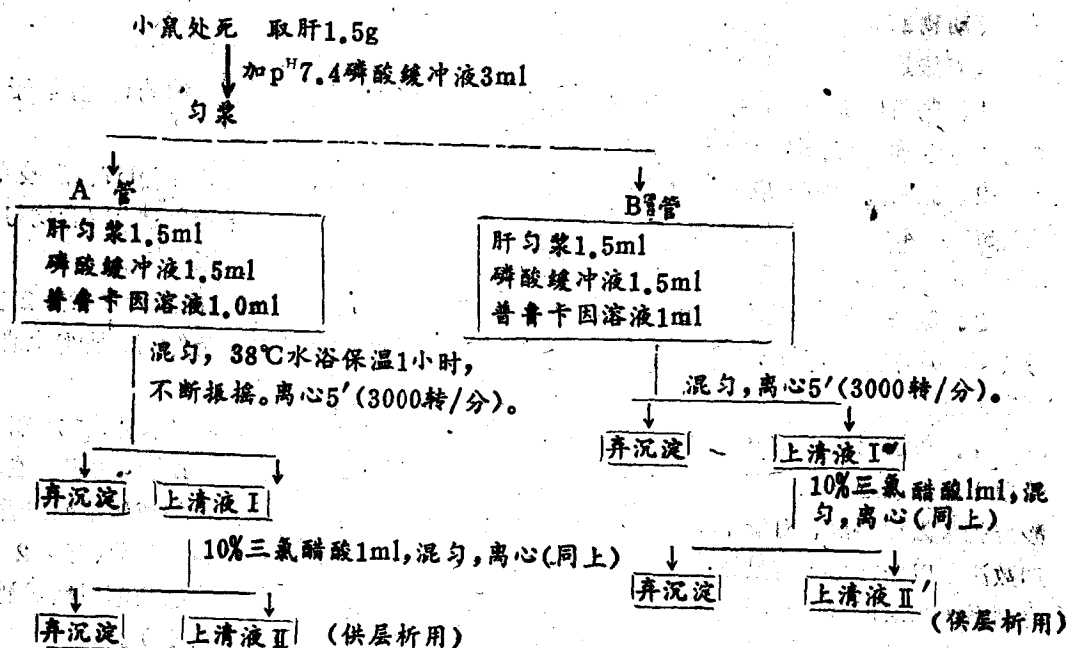
(1) pH7.4的0.1M磷酸缓冲液:  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  5.67g (如含12个结晶水则为 14.33g)  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.36g, 加蒸馏水至500ml, 并以HCl或NaOH溶液校正pH值。

(2) 对-二甲氨基苯甲醛显色剂: 对-二甲氨基苯甲醛1g, 溶于50ml盐酸和50ml乙醇的混合液中。

(3) 对氨基苯甲酸标准溶液: 准确称取对氨基苯甲酸200mg, 于50ml容量瓶中用无水乙醇约20ml溶解, 加蒸馏水至刻度, 摇匀。

(4) 盐酸普鲁卡因标准溶液: 准确称取盐酸普鲁卡因200mg, 于50ml容量瓶中用蒸馏水溶解, 并将蒸馏水加至刻度, 摇匀。

2. 操作流程:



## 实验8 血脑屏障对药物分布的影响

【目的】 观察台盼兰在体内的分布情况, 以证实血脑屏障的存在。

【器材】 注射器(1ml), 粗剪, 眼科剪, 眼科镊, 钟罩。

【药品】 1%台盼兰溶液。

【动物】 小鼠。

【方法】

取小鼠1只, 自尾静脉注射1%台盼兰溶液0.3ml/只。10分钟后将小鼠处死, 立即作全身解剖, 观察并比较脑、脊髓及其他脏器的颜色有无区别。

【注意事项】 解剖时尽量少出血, 脊髓可观察其横断面。

【结果】 记录各脏器、脊髓、脑的颜色。

【思考题】 血脑屏障为何影响药物的分布?

## 实验9 全血水杨酸钠二室模型药动学参数测定

【目的】 用分光光度计测定水杨酸钠血浓度, 并用测得的血药浓度数据计算二室模型药动学参数。

【器材】 试管(10ml), 离心管(10ml), 刻度吸管(1ml, 2ml, 5ml), 注射器(1ml, 2ml, 5ml), 移液吸管, 普通剪刀与手术刀, 弯血管钳, 座标纸, 粗天平, 分光光度计, 离心机, 计算器(Casio fx-180P)。

【药品】 1%盐酸普鲁卡因溶液, 10%及0.04%水杨酸钠溶液, 三氯化铁和三氯醋酸混合液(5克三氯化铁加10%三氯醋酸溶解至100ml), 100u/ml肝素生理盐水。

【动物】 兔。

【方法】

(一) 分光光度计测定全血水杨酸钠浓度:

1. 取离心管11支, 编0~10号。每管加入三氯化铁和三氯醋酸混合液2ml, 9号管再加0.04%水杨酸钠标准液0.6ml, 10号管另加蒸馏水0.6ml。取兔1只称体重, 仰缚于兔板上, 于兔颈部皮下注射1%盐酸普鲁卡因溶液1~2ml, 局麻后分离一侧颈外静脉, 并在其下方横穿一根细线, 供采血时固定静脉用。

2. 以100u/ml肝素生理盐水润湿的1ml注射器, 以该侧颈外静脉采血0.6ml加入0号管中, 用干棉球轻压针孔处以防止出血。从已分离出的颈外静脉的对侧耳缘静脉注射10%水杨酸钠溶液2ml/kg体重。准确记录给药完毕时间。在给药完毕后的第1、3、5、10、20、50、80和110分钟从颈外静脉分别采血0.6ml, 依次加入第1~8号管中(每次采血后要洗净注射器, 以肝素生理盐水润湿备用)。

3. 用小玻棒搅拌0~8号管各1分钟, 分别加入蒸馏水5ml再搅拌1分钟, 以3000转离心10分钟, 用移液吸管取上清液6ml备用。9、10两管各加蒸馏水5ml, 摇匀待用。

4. 在分光光度计上, 用510nm波长, 1cm光径比色皿, 以蒸馏水调零, 测0~10号管光密度得 $d_0 \sim d_{10}$ 。各测试管水杨酸钠光密度与水杨酸钠浓度按下列公式计算:

标准管水杨酸钠光密度  $D_s = d_s - d_{10}$ ,

测定管水杨酸钠光密度  $D_a = d_a - d_{10}$ ,

测定管水杨酸钠浓度  $C_s = \frac{D_s}{D_0} \times 400 (\mu\text{g/ml})$ 。

## (二) 二室模型药动学参数计算

将测得的血中水杨酸钠浓度取对数，以对数浓度为纵坐标，对应时间为横坐标作点图，或直接以浓度对时间在半对数纸上作图。可见首段对数血药浓度下降很快（分布相或  $\alpha$  相），不呈直线关系，后段下降缓慢（消除相或  $\beta$  相），则呈直线关系，符合二室模型。可用两项指数方程表示血药浓度和时间关系：

$$C = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t} \quad (1)$$

$t$  为时间， $A$ 、 $B$  分别表示  $t = 0$  时  $\alpha$  相和  $\beta$  相的起始血药浓度。 $\alpha$ 、 $\beta$  主要反应分布与消除的复合速率常数， $e$  为自然对数的底。因为  $\alpha > \beta$ ，经过一定时间， $Ae^{-\alpha t}$  值趋近于零，而  $Be^{-\beta t}$  仍有一定数值，则 (1) 式为：

$$C = Be^{-\beta t} \quad (2)$$

(2) 式取对数

$$\log C = \log B - \frac{\beta}{2.303} t \quad (3)$$

(3) 式表明分布相后的对数血药浓度与时间呈直线关系，但各点不一定都在直线上，根据最小二乘方原理能找到一条直线，使各点至该直线距离的平方和最小，那么这条直线的方程就表示对数浓度随时间的变化关系，因此用对数血药浓度和时间进行直线回归，计算出回归系数  $b$  和截距  $a$ ，则直线方程  $y = a + bx$  就唯一地被确定：

$$a = \frac{\sum y - b \sum x}{n}$$

$$b = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

式中  $n$  为样本个数， $x$  表示  $t$ ， $y$  表示  $\log C$ ，截距  $a = \log B$ ，则  $\beta$  项初始浓度  $B = \log^{-1} A$ 。

回归系数  $b = \frac{\beta}{2.303}$ ，则  $\beta = 2.303b$ 。故公式 (2)  $C = Be^{-\beta t}$  被确定。将前 4 个标本的取血

时间 ( $t = 1, 3, 5, 10$  分) 代入 (2) 式，得到  $\beta$  项在  $\alpha$  时相的理论血药浓度  $\hat{C}_1, \hat{C}_3, \hat{C}_5, \hat{C}_{10}$ ，以实测血药浓度  $C_1, C_3, C_5, C_{10}$ ，分别减去对应时间的理论浓度，得一组相应时间的残差浓度  $C_{r1}, C_{r3}, C_{r5}, C_{r10}$ 。即

$$C_r = Ae^{-\alpha t} \quad (4)$$

取对数

$$\log C_r = \log A - \frac{\alpha}{2.303} t \quad (5)$$

从公式 (5) 知  $\log C_r$  与  $t$  呈直线关系，故仍可进行直线回归计算。截距  $a = \log A$ ，则  $A = \log^{-1} a$  回归系数  $b = \frac{\alpha}{2.303}$ ， $\alpha = 2.303b$ 。

将 A, B,  $\alpha$ ,  $\beta$  值代入下列公式计算出有关药动学参数。

静脉注射药量  $x_0$ , 中央室分布容积:

$$V_c = \frac{x_0}{A + \beta} \quad (\text{ml}) \quad (6)$$

$\alpha$ ,  $\beta$  相半衰期:

$$T_{1/2\alpha} = \frac{0.693}{\alpha} \quad (\text{分}) \quad (7)$$

$$T_{1/2\beta} = \frac{0.693}{\beta} \quad (8)$$

周边室向中央室转运速率常数:

$$K_{21} = \frac{A\beta + B\alpha}{A + B} \quad (\text{分}^{-1}) \quad (9)$$

经中央室消除的速率常数:

$$K_{10} = \frac{\alpha \cdot \beta}{K_{21}} \quad (\text{分}^{-1}) \quad (10)$$

中央室向周边室转运速率常数:

$$K_{12} = \alpha + \beta - K_{10} - K_{21} \quad (\text{分}^{-1}) \quad (11)$$

药时曲线下的面积:

$$AUC = \frac{A}{\alpha} + \frac{B}{\beta} \quad (\mu\text{g} \cdot \text{分}/\text{ml}) \quad (12)$$

总表观分布容积:

$$V_d = \frac{x_0}{\beta \cdot AUC} \quad (\text{ml}) \quad (13)$$

总清除率:

$$TBCL = \beta \cdot V_d \quad (\text{ml}/\text{分}) \quad (14)$$

经中央室药料清除率:

$$CL = K_{10} \cdot V_c \quad (\text{ml}/\text{分}) \quad (15)$$

将 A、B、 $\alpha$ 、 $\beta$  代入 (1) 式, 得水杨酸钠血浓度随时间变化的方程。

#### 【注意事项】

1. 采血量要准确。
2. 以开始采血时间作为血样本时间, 若未能按时采血, 则以实际采血时间参加计算。
3. 注射水杨酸钠溶液时, 动物会有挣扎, 注意固定兔头, 注射要一次成功, 否则影响  $\alpha$  相结果。

【结果】 根据各式计算药动学各参数。

【思考题】 测定药动学参数对临床药物的使用有何指导意义。

## 实验10 受体的饱和结合及其竞争抑制试验（放射受体分析）

### 【目的】

1. 运用放射受体的分析方法，测定 $^3\text{H}$ -双氢心得舒（ $^3\text{H}$ -DHA）与大鼠肺膜 $\beta$ -受体的饱和结合及心得安对其的竞争抑制。

2. 学习掌握饱和结合及竞争抑制试验的基本操作，并对实验的数据进行处理，求得有关的参数。

3. 学习作图分析（饱和结合与竞争抑制曲线、Scatchard 作图）。

### 【原理】

1. 受体饱和结合试验：

药物与受体的结合，与一般酶-底物的相互作用相类似，符合质量作用定律，可逆的结合反应如下式：



当结合、解离达到动态平衡时

$$K_1 [R] [F] = K_2 [RF]$$

$$\frac{K_1}{K_2} = \frac{[RF]}{[R][F]} = K_a \quad (2)$$

$$\frac{K_2}{K_1} = \frac{[R][F]}{[RF]} = K_d \quad (3)$$

式中 $[R]$ 为游离受体浓度， $[F]$ 为游离药物浓度。 $K_1$ 结合常数， $[RF]$ 为药物-受体络合物浓度（即特异性结合 $B$ ）， $K_2$ 为解离常数， $K_a$ 为平衡结合常数（亲和力常数）， $K_d$ 为平衡解离常数（与 $K_a$ 互为倒数关系。 $K_d$ 值越小，则 $K_a$ 值越大，亲和力越高）。

受体的结合部位是有限的，其最大结合部位浓度（ $B_{max}$ ）是药物-受体络合物浓度与游离受体结合部位浓度之和：

$$\text{即：} B_{max} = [RF] + [R]$$

由此，代入式（3）

$$\frac{(B_{max} - [RF])[F]}{[RF]} = K_d \quad (4)$$

$$\text{则 } B = [RF] = \frac{B_{max} \cdot [F]}{K_d + [F]} \quad (5)$$

由式（5）可见，在 $[F]$ 浓度已定的条件下，结合的受体数（ $B$ ）与解离常数 $K_d$ 成反比，而 $[F]$ 值很大时，则 $K_d$ 值很小，可忽略不计，此时 $B$ 接近或等于 $B_{max}$ ，表示有限