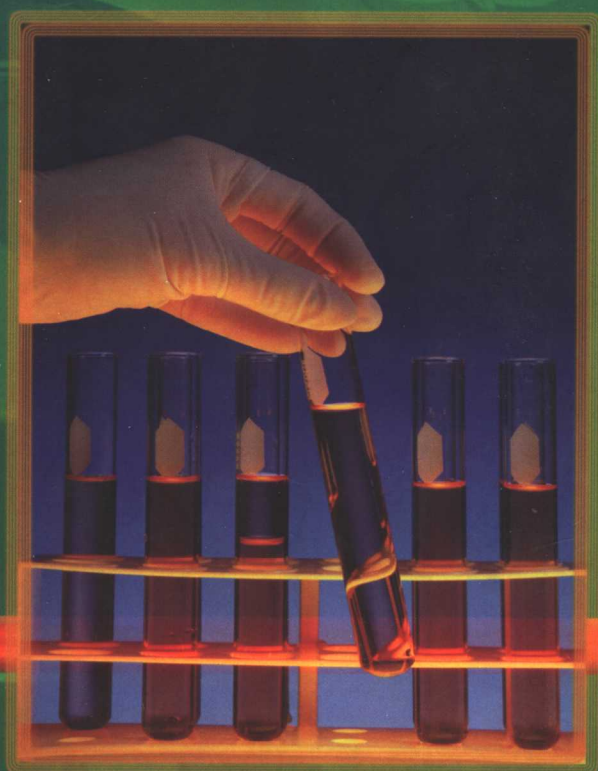


YAOLIXUE SHIYAN ZHIDAO

药理学实验指导

主 编 张忠泉 包翠屏



65
59
00
3

河南医科大学出版社

药理学实验指导

主 编 张忠泉 包翠屏
副主编 ~~孟文芳~~ ~~孙惠玲~~
主 审 ~~许冠秦~~
编 委 ~~按姓氏笔画为序~~
包翠屏 纪耀岐 孙惠玲
~~陈百景~~ 李 明 李武营
张忠泉 孟文芳

河南医科大学出版社
· 郑州 ·

图书在版编目(CIP)数据

药理学实验指导/张忠泉,包翠屏主编. —郑州:河南医科大学出版社,2000.11

ISBN 7-81048-431-1

I.药… II.①张…②包… III.药理学-实验-医学院校-教材 IV.R965

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2000)第 49571 号

河南医科大学出版社出版发行

郑州市大学路 40 号

邮政编码 450052 电话 (0371)6988300

河南医版激光照排中心照排

河南东方制图印刷有限公司印刷

开本 787×1092 1/16 印张 6.125 字数 145 千字

2000 年 11 月第 1 版 2000 年 11 月第 1 次印刷

印数 1~6090 册 定价:12.00 元

前 言

药理学实验是药理学的重要组成部分,是提高教学质量的重要环节。我们编写本实验指导的目的,即在于通过一定的实验内容,使学生掌握药理学实验的基本技能,了解获得药理学知识的科学方法,验证药理学中一些重要的基本理论,更加牢固地掌握药理学的基本概念,为今后临床用药及新药研究奠定方法学的基础。

本实验指导是按照药理学的系统顺序编列内容的,共分5篇:第一篇药理学实验基础知识,选录了8个实验;第二篇药理学总论实验,选录了10个实验;第三篇药理学各论实验,选录了38个实验;第四篇药物制剂安全限度实验,选录了5个实验;第五篇药理实验仪器简介,选录了常用的生理药理多用电仪、JL-3道生理记录仪、心电图机及自动平衡记录仪等的使用方法。

本实验指导的内容较为广泛,各专业可根据自己的特点选用。在编写中参选了丁全福和吴景时2位主编的《药理学实验指导》的内容,我们在此表示衷心感谢。

由于时间紧迫,经验不足,水平有限,在内容选排上可能会有缺点和错误,敬请读者多提宝贵意见,以供改进和完善。

编 者
2000年元月

目 录

第一篇 药理学实验基础知识

一、实验课的目的和要求	(1)
二、实验结果的整理和实验报告的写作	(2)
三、实验设计的基本知识	(3)
四、药理实验中有关药品的基本知识	(8)
五、实验动物的选择、性别辨认、标记和去毛方法	(9)
六、实验动物的捉持方法及处死方法	(13)
七、常用离体器官标本制备方法及实验动物的生理常数	(15)
八、实验动物给药方法和麻醉方法	(20)

第二篇 药理学总论实验

一、药物效应动力学实验	(27)
实验 1 乙酰胆碱的量效关系及量效曲线	(27)
实验 2 药物剂量对药物作用的影响	(28)
实验 3 药物的拮抗作用	(30)
二、药物代谢动力学实验	(30)
实验 1 药物剂型对药物作用的影响	(30)
实验 2 不同给药途径对药物作用的影响	(31)
实验 3 pH 对药物吸收的影响	(32)
实验 4 药物血浆半衰期的测定	(33)
实验 5 肝功能损害对药物作用的影响	(34)
实验 6 肝药酶对药物作用的影响	(35)
实验 7 肾功能对药物作用的影响	(36)

第三篇 药理学各论实验

一、外周神经系统药理学实验	(37)
实验 1 毛果芸香碱和阿托品对腺体分泌的作用	(37)
实验 2 传出神经药对蛙腹直肌的作用	(37)

实验 3 传出神经系统药物对血压的作用	(38)
实验 4 药物对离体肠平滑肌的作用	(40)
实验 5 有机磷农药中毒及其解救	(41)
二、中枢神经系统药理学实验	(42)
实验 1 乙醚的吸入麻醉作用	(42)
实验 2 异戊巴比妥钠的抗惊厥作用	(43)
实验 3 硫喷妥钠的静脉麻醉作用	(43)
实验 4 硫酸镁的抗惊厥作用和中毒时钙盐的拮抗作用	(44)
实验 5 热板法观察药物的镇痛作用	(44)
实验 6 小鼠扭体法观察动物的镇痛作用	(45)
实验 7 氯丙嗪对小鼠的镇静作用(电刺激法)	(46)
实验 8 氯丙嗪对家兔体温的影响	(47)
实验 9 纳洛酮对急性吗啡中毒的解救作用	(48)
实验 10 尼可刹米对吗啡呼吸抑制的解救	(50)
三、内脏系统药理学实验	(51)
实验 1 钙拮抗剂对血管平滑肌的作用	(51)
实验 2 强心甙中毒对心律的影响	(52)
实验 3 强心甙对在体蛙心的作用	(52)
实验 4 利多卡因对氯化钡诱发大鼠心律失常的治疗作用	(53)
实验 5 呋喃苯胺酸的利尿作用	(54)
实验 6 药物对离体子宫平滑肌的作用	(55)
实验 7 亚硝酸异戊酯的扩血管作用	(56)
实验 8 普萘洛尔的抗心绞痛作用	(56)
实验 9 卡托普利的降压作用	(57)
实验 10 黄镁合剂对大鼠胃溃疡的作用	(58)
实验 11 药物对肠蠕动的的影响	(59)
实验 12 可待因的镇咳作用	(60)
实验 13 药物对气管链的作用	(61)
实验 14 肝素的体内抗凝血作用及其中毒时鱼精蛋白的拮抗作用	(61)
实验 15 肝素和枸橼酸钠的体外抗凝血作用	(62)
实验 16 异丙嗪对组胺的拮抗作用	(63)
四、激素及化学药物实验	(64)
实验 1 地塞米松的抗炎作用(大鼠后足容积测量法)	(64)
实验 2 氢化可的松对兔皮肤毛细血管通透性的影响	(65)
实验 3 氢化可的松稳定红细胞膜的作用	(66)
实验 4 地塞米松的抗过敏性休克作用	(67)
五、化学治疗药物实验	(68)
实验 1 吡哌酸、氟哌酸、青霉素、庆大霉素和多黏菌素的抗菌作用比较	(68)
实验 2 硫酸链霉素的毒性反应和钙的拮抗作用	(70)

实验 3 青霉素 G 钾盐和青霉素 G 钠盐快速静脉注射的毒性比较	(71)
---	------

第四篇 药物制剂安全限度实验

实验 1 药物过敏实验	(72)
实验 2 药物刺激性实验	(72)
实验 3 小鼠急性毒性实验	(74)
实验 4 LD_{50} 的测定	(74)
实验 5 大鼠口服途径给药的长期毒性试验	(77)

第五篇 药理实验仪器简介

一、生理药理多用仪	(80)
二、JL-3 三道生理记录仪使用方法	(83)
三、心电图机	(85)
四、自动平衡记录仪	(88)

第一篇 药理学实验基础知识

一、实验课的目的和要求

药理学实验课是药理学教学的重要组成部分,它的目的在于通过实验,不仅仅是验证药理学中的重要基本理论,更牢固地掌握药理学的基本概念,以便正确地用于临床,更重要的是智能培养,即了解获得药理学知识的科学途径,使学生掌握进行药理学实验的基本方法和技能,培养与提高自学、独立思考、独立工作、科学思维、实验设计及统计的能力,初步具备客观地对事物进行观察、比较、分析、综合和解决实际问题的能力。同时,通过实验培养学生对科学实验的严肃态度、严密方法和实事求是的作风。

为了达到上述目的,要求做到以下几点。

(一)实验前要求

1. 仔细预习《药理学实验指导》,了解实验目的、要求、方法和操作步骤,领会其设计原理。

2. 结合实验内容,复习有关药理学、生理学、生物化学等方面的理论知识。

3. 预测实验中各步骤可能出现的情况,注意实验中可能发生的问题。

(二)实验时要求

1. 实验分小组进行,每次实验前做好明确分工,同时要密切配合,使实验时能各尽其责、有条不紊地完成实验。

2. 先检查仪器、药品、动物是否与实验指导相符合,将实验器材妥善安排、正确安装。

3. 严格按实验指导的步骤进行操作,准确计算给药量,注意爱护动物和标本,节约实验材料和药品。

4. 保持实验室肃静和实验台面清洁与整齐,注意遵守实验室规则,当仪器损坏时,应立即报告教师,按规章处理。

5. 认真地观察实验过程中出现的现象,随时记录药物反应的出现时间、表现及最后转归,联系理论自己动脑思考,克服对教师的依赖性。

(三)实验后要求

1. 认真整理实验结果,必要时对实验结果进行统计学处理,经过分析讨论,作出结论,写出实验报告,按时交给指导老师。

2. 整理实验器材,均应洗净、擦干、妥善安放。将死动物及其他废物丢入指定场所,做好实验室清洁卫生。

(四)对实验指导教师的要求

- 1.明确实验目的、要求,精通实验内容,确定各项实验在整个实验课中所处的地位。
- 2.指导实验课要认真、耐心,指导学生实验技术和操作,培养学生独立分析问题和解决问题的能力 and 科学作风。
- 3.认真审阅实验报告,加强对学生的实验成绩考核工作。
- 4.指导教师带实验课前必须参加预试,预试是正式实验前的关键步骤。根据预试所得结果或经验,对原实验设计作必要的修正,是指导药理实验课不可缺少的步骤。通过预试可以解决:修正实验动物种类和例数,检查观察指标是否客观、灵敏、可靠,改进实验方法和掌握熟悉实验技术,摸索药物剂量、浓度与反应关系,以便确定最适剂量,拟出实验记录格式,并进行修正,确保正式实验有条理、按秩序进行。

以上从学与教两方面提出要求,师生双方共同努力,才能达到实验课的教学目的。

二、实验结果的整理和实验报告的写作

整理实验结果和撰写实验报告是做完每项实验后的总结工作。通过良好的总结,可使我们把在实验过程中获得的感性认识提高到理性认识,肯定实验取得的成果,明确尚未解决的问题及实验中的优缺点。实验报告是向他人提供研究经验及供自己日后参考的重要资料。写实验报告也是培养学生文字表达能力和概括综合分析能力的重要训练过程,亦是一次科研论文撰写的练习,应当充分认识学生在校学习期间,学会做科学研究工作关键性工序的重要性。

1.实验结果的整理 药理实验结果有测量资料,如血压值、心率、体温变化、瞳孔大小、睡眠时间、生化测定数据等;数据资料,如阳性反应数或阴性反应数、动物死亡与存活数、记纹鼓曲线、心电图记录等。凡属测量资料和数据资料,均应以正确的单位和数值作定量表示,必要时应做统计学处理,以保证结论的可靠性。尽可能将有关数据组成表格或统计图,使主要结果有重点地表达出来,以便阅读、分析、比较。作表格时,一般将观察项目列在表内左侧,由上而下逐项填,而将实验中出现的变化,按照时间顺序,由左而右逐项填写。绘图时,应从纵轴和横轴上列出数值刻度,标明单位。一般以纵轴表示反应程度,横轴表示时间或药量,而在图的下方注明实验条件。如不是连续性变化,也可用柱形图表示。凡有曲线记录的实验,应及时在曲线图上标注说明,包括实验项目,实验动物的种类、性别、体重、给药量或其他实验条件等。对较长的曲线记录,可选取典型变化的段落,剪下后粘贴保存。这里需注意的是必须以客观的态度进行裁剪工作,不论预期内的或预期外的结果,均应留样参考。

2.实验报告的写作 实验报告要求结构完整、条理分明、文字简练、书写工整、措词注意科学性和逻辑性,尽量采用科学术语,一般应包括下列内容。

(1)实验题目 突出实验的主要内容。

(2)实验目的 言简意赅地说明实验预期达到的结果。

(3)实验方法 完全按照实验指导上的步骤进行时,可不必再重述。如果实验方法临

时有所变动,或者由于操作技术方面的原因,影响观察的可靠性时,应做简要说明。

(4)实验结果 是实验报告中最重要的一部分,实验报告上一般只列经过归纳表现的结果,但原始记录应保存备查。原始记录一般包括以下内容:①实验动物条件:种类、体重、性别、标记、编号、种系等;②实验药品:来源、批号、剂型、浓度、剂量、给药途径等;③实验环境:如日期、室温等;④实验方法:实验进程、步骤、方法详细记录;⑤观察指标:观测各种指标数据和原始描记曲线、图纸和统计学处理分析资料等。

实验结果须要绝对真实,切不可只选用主观愿望的资料,任意删去非预期的结果。要正确列表,表应有标题,说明表的内容,表的结构要简单明了。如实验报告中有表又有图时,图与表不要重复用同一数据,表中数据要注意有效数字,文字只提示图表说明什么问题,而不把图表中数据重复记录,文字能简单写明的数据不必用图表。

(5)讨论 应针对实验中所观察到的现象与结果,联系课堂讲授的理论知识进行分析和讨论,切不可离开实验结果去空谈理论,应抓住重点,不要面面俱到,避免外展过多,要判断实验结果是否为预期的,如果属于非预期的,则应分析其可能的原因。切忌文过饰非,应提出实验中不足和存在的问题。

(6)结论 实验结论是从实验结果归纳而得的概括性判断,也就是对本实验所能说明的问题、验证的概念或理论的简要总结,不必再在结论中重述具体结果。未获证据的理论分析,不要写入结论中。

总之,一篇好的实验报告应具备五性,即创造性、准确性、客观性、确证性、可读性。

创造性:实验中发现新问题,探索创新。

准确性:目的明确,数据准确,方法可靠。

客观性:实验结果要真实,实事求是。

确证性:作结论要根据实验结果,资料可信。

可读性:文字简明扼要,重点突出,层次清楚,通俗易懂,有逻辑性。

三、实验设计的基本知识

开展科学研究重在调研选题。课题大的来自国家计划,小一点的可根据工作实践,关键在于需要与可能。既要考虑工作条件,更要考虑国家的需要,必须将两者结合起来,才能有利于工作的开展,作出有意义的贡献。开题前的调查考究是必不可少的,包括文献资料的查阅、现场情况的考察、他人有关经验的借鉴等。经过开题报告和讨论决定后,针对课题目的,按主次先后拟定若干分题。分题的目的必须简单而明确。然后进行实验设计。根据实验设计,在严肃的态度、严密的方法和严格的要求下进行实验研究和结果记录,最后运用正确的统计分析,得出明确、可靠的结论并写成论文。

从整个实验研究过程来看,实验设计是中心环节。只有进行周密的设计,才能少走弯路,顺利地开展工作,避免不必要的损失和失败。例如,对某一新药进行亚急性毒性试验,测量用药后各项指标都很认真,但实验结束后进行统计分析时,发现给药前没有观测各项指标的正常值,同时又未设对照组。因此,尽管实验中做了很多观测,但从这种实验结果

却不能对该新药的亚急性毒性进行判断,致使整个实验归于失败。造成这种后果的原因就在于事先没有进行周密的实验设计。实验设计虽不能改变事物发展的规律,但是一个完整的、正确的实验设计确有助于正确反映事物发展的内在规律。

完整的药理实验研究设计应该考虑以下几个方面。

(一)明确和突出实验目的

进行实验设计时,首先要考虑的就是必须明确研究目的,然后围绕这一目的(也就是要解决的中心问题)设计实验,做到有的放矢。例如,要研究某一药物是否有抗癌作用,就要用适当数量的2组动物同样接种肿瘤,一组给受试药物,另一组不给药。除此以外,其他一切条件2组均应相同。这样就突出了试验药物这一因素。如果用药组的肿瘤较未用药组为小,那就必然是药物这一因素的作用了。如果在同一给药组中又加上发热处理或其他因素,不分主次地想观测许多内容,结果必然一个也弄不清楚。

(二)确定实验方法和观察指标

实验的观察指标往往和实验方法有联系。例如,用实体瘤筛选抗癌药,常以瘤重变化作指标,而用腹水瘤株筛选抗癌药时,则常以动物存活日期或腹水及癌细胞数量的变化作指标。指标选择首先要能反映被研究问题的本质,具有专一可靠性(reliability)。例如,研究抗高血压药时,其特异性药理指标是动脉血压,尤其是舒张压。研究治疗急性肾炎的药物时,动脉血压增高虽然也属肾炎的常见症状,但并非所有急性肾炎病人血压都升高(20%~30%病例血压不升高),因此其特异性就不及尿常规和肾功能等指标。其次是指标必须用客观方法,不仅能定性而且能定量地加以测量,取得准确数据,如血压、血糖、心率、血细胞数目、体重等。而抑郁、愉快、麻木、头昏、疼痛等都属主观感觉。

(三)针对要求选取实验样本

药理实验对象包括正常动物、麻醉动物及病理模型,既有整体动物,也有离体器官、组织和细胞等,主要根据实验目的、方法和指标的要求而定。离体标本及小动物不仅在人、物力及时间上均较节省,数量也较易获得,常用于初筛。当然最主要的还是根据实验目的、要求和各种动物或标本的特点进行选择,如青蛙和蟾蜍心脏在离体情况下都能较长时间节律性地搏动,常用于强心药的初筛。但如果实验药物属强心甙类,则蟾蜍因有种属耐受性,常常不及青蛙适用。两栖类的坐骨神经腓肠肌标本和腹直肌可用以观察药物对外周神经、神经肌接头以及横纹肌的作用。小白鼠是实验室的常用动物,因其便于大量繁殖,适用于需用较多动物的实验,如药物初筛、半数致死量(LD₅₀)测定等。此外,由于小白鼠的繁殖力强,妊娠期短,也常用于避孕药的初筛。大白鼠的用途与小白鼠相似,由于体形较大,可利用其踝关节作抗炎药的筛选。大白鼠消化系统中没有胆囊,便于引流观测胆汁分泌。家兔易饲养获得,体温较稳定,适于解热药、热原检查、在体心脏实验、离体或带神经兔耳血管灌流以及避孕药复试等。豚鼠也较常用,因其对组胺敏感,常用于平喘药、抗组胺药以及过敏性试验。抗结核药的研究也常以豚鼠作病理模型。猫的来源不及上述各种动物方便,主要用神经节鞘膜、血压以及呕吐等实验。狗是实验室常用的较大动物,如用于冠状动脉血流量测定,手术操作较其他动物方便,还适宜于作实验性高血压、胃瘘、肠瘘以及慢性毒性实验等。猴的来源较少,从分类学的观点看,与人类最为接近,可用于研究一些与人类相近的感染,如脊髓灰白质炎、肠伤寒及疟疾等。此外还用于研究影响高级神经活动的药物以及临床前毒性的药动学研究等,其结果对于临床更有参考意义。

不同种类的动物对同一药物的反应一般是相似的。但有时不仅有量的差异,甚至还可有质的不同。如组胺对狗、猫等均使血压下降,而对家兔则致血压上升。因此,对某一种动物以及生活环境等也可影响药物的作用,应根据实验目的要求作适当的选择和安排,尽量使样本针对要求符合代表性(representation)的原则。

(四)重复原则与样本大小

重复原则亦称重现性(replication),在科学实验研究中常与对照原则和随机原则合称实验设计的三项基本原则。由于个体差异或实验误差,仅根据一次实验或一个样本动物所得的结果,往往很难下结论。在适当范围内重复愈多,则愈可靠。重复除增加正确性和可靠性以外,并可使我们知道变异的情况。所以在进行药理实验设计时,首先碰到的问题就是:该用多少动物或多大的样本进行实验,才能保证结果正确性的重要原则。

样本加大固然可以提高精密度,但是人力、物力和时间的消耗也随之增加,不符合经济原则。而且单纯加大样本并不能排除偏差。所以对样本的大小,应在实验设计中考虑,如何能在用尽量少的动物的情况下获得比较可靠的结论。

样本大小的估计原则,须根据下列因素来考虑。

1. 变异系数大,样本应大;反之,变异系数小,较小样本就可得到显著的差别。
2. 可信限要求小,样本需增大;反之,可信限定得大,样本就可较小。
3. P 值要求小,样本必须加大;反之, P 值定得大,样本就可较小。

基于以上原因,考虑如何用最少的动物数以得到最可靠的资料时,应按统计学原理,进行样本大小的实验设计。例如,用一定数量的动物来比较实验组与对照组的药效时,2组动物数相等, t 值最大。

$$\text{因按 } t \text{ 检验公式: } t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{Sc} \cdot \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}}$$

上式中实验动物的数量只影响平方根内的数值, $n_1 + n_2 = N$ 系固定值,因而在 $n_1 = n_2$ 时平方根值最大。同理,2组以上时也是以各组动物数相等时 t 值最大。

有些研究工作者有一种错误的习惯,往往把对照组动物安排得比实验组动物少一些。按 t 检验公式,10 个对照与 20 个治疗动物或 20 个对照与 10 个治疗动物的结果可靠性是相同的,而最经济的分配是 2 组有相等数量的动物。但是经过预试,估计实验组会有较多的动物在实验结束前死亡,这时实验组动物的数量也可适当增加。

因此,做一个实验需用的动物数应当根据前人或过去研究预试的经验,以及这次实验所需的精确度来考虑。例如,过去某项肿瘤实验,治疗组与对照组平均瘤重相差 3 g,合并标准差(Sc)为 5 g,显著性(t)检验表明无显著差异。假如这次又要进行实验,治疗组与对照组动物平均肿瘤重量相差 3 g 以内的概率为 99%,那么每组需用多少动物?

$$\therefore t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{Sc} \cdot \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}} = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{Sc} \cdot \sqrt{\frac{n}{2}}$$

$$\text{即 } n = \frac{2Sc^2 t^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

t 值因估计 n 约大于 30,故可按自由度 30 查表得 $P = 0.99$ 时的 t 值为 2.75。

$$\text{代入上式得 } n = \frac{2 \times (5)^2 \times (2.75)^2}{3^2} = 42$$

∴ 每组至少需动物 42 只。

(五)对照原则与比较类别

在自然科学中,特别是生物科学实验,影响实验的因素很多。这些因素有的能控制,有的不能控制。如个体之间的差异给实验带来的影响就不能控制。为了解决这个问题,在实验中必须设立对照组,用对照组和实验组的比较来消除各种无关因素的影响。对照组与实验组之间除了受试药物间的差别之外,其他一切条件(包括实验对象、实验者、实验方法、仪器、环境及时间等)应力求一致。其目的是为了能从实验组与对照组的比较中得出药物作用的准确结论。对照一般可分为 2 类。

1. 自身对照 即在同一个体身上观察给药前后某种观测指标的变化,或者 2 种——前后交叉比较。这样可以减小个体差异的影响。但本法不适用于不能在同一个体身上多次进行试验、观察的情况。

2. 组间对照 系在实验中设若干平行组,进行组间比较,可分为不给药(或不加处理)的空白对照组及给已知药的标准药对照组。前者最常用,后者便于与已知药比较,并可检验实验条件是否能有效地反映供试品的药效。

凡是可以自身对照设计来进行的实验,应尽量加以采用,而不要用组间对照设计。因为自身对照比组间对照更为经济,兹作进一步说明。

设在组间对照的实验中,每组用动物 n 只,2 组共用 $2n$ 只,2 组的均数之差为 $\bar{X}_1 - \bar{X}_2$,合并标准差为 S_c ,则

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S_c} \cdot \sqrt{\frac{n^2}{2n}} = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S_c} \cdot \sqrt{\frac{n}{2}}$$

在自身对照的实验中,如果也用 $2n$ 只动物,各只动物前后观察值之差的均数为 $\bar{X}$,标准差为 S ,则 $t = \frac{\bar{X}}{S} \cdot \sqrt{2n}$ 。

由于自身对照减少了个体差异的影响, S 应小于 S_c ,而 $\sqrt{2n}$ 当然大于 $\sqrt{\frac{n}{2}}$ 。设 $\bar{X}_1 - \bar{X}_2 = \bar{X}$,则从自身对照实验得到的 t 值必大于从组间对照实验得到的 t 值,所以自身对照设计的效率比组间对照设计为高。

同时设多个实验组时,为保证对照组应有的可靠性,对照组数应与实验组数的平方根相等。例如有 9 个实验组时,就需要 $3(\sqrt{9})$ 个对照组。

(六)随机抽样与分组

由于药理实验的对象系生物样本,本身常有差异,因此样本的分组应按随机化(randomization)的原则,以避免有意或无意的偏差,使样本的生物差异平衡分配到各组。常用方法如下。

1. 简化分层随机法 常用于单因素小样本的一般实验。即将同一性别的动物按体重大小顺序排列,分组时由体重小的到大的,依次随机分配到各组。一种性别的动物分完以后,再分配另一种性别的动物。各组雌雄性动物的数目应尽可能相等。

2. 完全随机法 主要用于单因素大样本的实验。先将全部动物编号,按统计学所附随机数字表,任取一段数字,依次排配各个动物的编号。然后按排配随机数字的奇偶(分

2组时)或除以组数后的余数(分2组以上时)作为归入的组次。最后随机调整,使各组的动物数达到均等。

周次	兔号 1 2 3 4	1,3 两 行对调 →	2,4 两 列对调 →	C B A D B A D C D C B A
一	A B C D			
二	B C D A			
三	C D A B			
四	D A B C			

A B C D E	A B C D E F
B A E C D	B A F E D C
C D A E B	C D A B F E
D E B A C	D F E A C B
E C D B A	E C B F A D

5×5 拉丁方阵 F E D C B A

6×6 拉丁方阵

5.发现值得进一步研究的线索。

(八)拟订实验记录格式

通过预试,拟出实验记录的格式,并进行修正,以保证正式实验能有条理、按顺序地进行,不至遗漏重要的观测项目,并便于结果的统计分析。实验记录一般应包括以下几项。

- 1.实验样本的条件,如动物的种属、体重、性别、标记、编号等。
- 2.实验药物的情况,如药物的来源、批号、剂型、浓度、剂量及给药途径等。
- 3.实验环境的情况,如实验时间(日期、钟点)、室温、湿度等。
- 4.实验进程、步骤及方法的详细记录。
- 5.观测指标的变化或原始描记图纸等。
- 6.实验工作者的轮流值班安排等。

(九)数据统计分析

每次实验须随时作记录。告一段落后对所获结果作统计、分析。有时在整理分析时就可发现一些问题。及时小结有利于改进下一步工作,并便于最后总结,作出结论,写成论文。

四、药理实验中有关药品的基本知识

(一)剂量单位

药量的基本质量单位是克(g),有时亦用到毫克(mg)、微克(μg)、毫微克(ng)及微微克(pg)。

换算关系是: $\text{g} = 10^3 \text{ mg} = 10^6 \mu\text{g}$

药量的基本容量单位是毫升(ml),有时亦用到升(L)、微升(μl)。

换算关系是: $\text{L} = 10^3 \text{ ml} = 10^6 \mu\text{l}$ 。

(二)给药容量

注射用药前应首先考虑该种动物在特定注射途径所能允许的最大容量(ml),只有确定容量之后才能决定溶液配成多大浓度合适。通常,动物血容量占体重的 1/3 左右,静脉注射药液容量过大,可影响到循环系统正常功能,故静脉注射容量最好在体重的 1/100 以下,静脉外注射(皮下、肌内及腹腔)容量最好在体重的 1/40 以下。如一只体重为 20 g 的小白鼠,尾静脉注射不宜超过 0.2 ml;肌内、皮下、腹腔等部位注射不宜超过 0.5 ml。

(三)药物浓度

药物浓度是指定量液体或固体制剂中所含药物的分量,常用的液体制剂有下列几种表示方法。

1.比例浓度 用来表示稀溶液的浓度,1 ml 中含 0.1 mg 肾上腺素或 1 L 中含 1 g 肾上腺素。

2.摩尔/升(mol/L)浓度 是指 1 升溶液中所含溶质的摩尔数,称为该溶液的摩尔浓度,如 0.1 mol/L NaCl 溶液表示 1 L 溶液中含有 0.1 摩尔,即 5.844 g NaCl(NaCl 相对分子质量为 58.44)。

3. 剂量换算 动物实验所用药物剂量,一般是按 mg/kg(有时也用 g/kg)计算,给药时必须从已知药物浓度换算成相当于每千克体重(为方便起见,大鼠、豚鼠也可按每 100 g 体重,小鼠、蟾蜍可按每 10 g 体重)应该注射的药液量(ml)。有时则必须根据药物剂量和给药容量计算出合适的药物浓度;有时还须进行浓度之间换算以便进行分析和计算。

(四)药理实验常用生理溶液的成分和配制剂量

见表 1-1。

(五)常用抗凝剂的浓度和用法

1. 枸橼酸钠 常用质量浓度为 38 g/L 溶液,一般以血液 9 份加此液 1 份。因其抗凝作用较弱,且碱性较强,不宜作化学检验之用,可用于红细胞沉降速度测定,动物血压试验所用的枸橼酸钠为 50~70 g/L 溶液。

2. 草酸钾 用 100 g/L 草酸钾溶液,取 0.2 ml 于试管内旋转试管,使溶液浸湿试管后,然后放在烘箱中(80℃)烤干,包好备用。每只如此制备的试管可使 10 ml 血不凝。如加血量不到 10 ml,可按比例减少草酸钾溶液,草酸钾过多可引起溶血。

3. 肝素 市售肝素钠溶液每毫升含肝素钠 12 500 u,相当于 125 mg(即 1 mg 相当于 100 u)。

体外抗凝:取 10 g/L 肝素溶液 0.1 ml 于试管内均匀浸湿后,放入烘箱(80~100℃)烤干,每管能使 10 ml 血不凝。

体内抗凝:静脉注射 500~1 000 u/kg。

4. 草酸钾-草酸铵混合剂 草酸钾 0.8 g,草酸铵 1.2 g,加蒸馏水至 100 ml,取 0.5 ml 置于试管中,烘干备用。每管可使 5 ml 血不凝,此抗凝剂适用于体外抗凝血,但不能用于血液非蛋白氮测定。

五、实验动物的选择、性别辨认、标记和去毛方法

(一)实验动物的选择

药理实验用的动物有蛙、蟾蜍、小白鼠、大白鼠、豚鼠、猫、家兔和狗等。选用哪种动物最为恰当,主要依据实验的目的与要求。

1. 一般原则

(1)年龄、体重相当 幼龄动物对药物比较敏感,一般药理实验均应采用成年动物。观察生长发育的实验要选择幼龄动物;老龄动物代谢缓慢,生理功能低下,仅用于老龄医学研究。

动物年龄大小与其体重大体一致。常用动物成年时的体重为:小鼠 18~28 g,大鼠 180~280 g,豚鼠 350~650 g,家兔 2~3 kg,猫 1.5~2.5 kg,狗 9~15 kg。同一实验的动物应当年龄一致,体重相近,相差<10%。年龄、体重相差悬殊将增加动物反应的个体差异,降低实验结果的可靠性。

(2)雌雄动物各半 不同性别动物对药物的敏感性有一定差异,雌鼠对药物的敏感性稍大于雄鼠。性别对药物的影响要小于动物种系和个体差异。如无特殊要求,一般药理

表 1-1 药理实验常用生理溶液的的成分和配制

名 称	用 途	NaCl (g)	KCl (g)	CaCl ₂ (g)	NaHCO ₃ (g)	NaH ₂ PO ₄ (g)	KH ₂ PO ₄ (g)	MgSO ₄ (g)	MgCl ₂ (g)	CO ₂ (g)	葡萄糖 (g)	O ₂ (纯)
任氏液 (Ringer)	用于蛙类器官	6.5	0.14	0.12	0.2	0.0065					2	
洛氏液 (Locke)	温血动物心脏	9.0	0.42	0.24	0.2						2.0	充 O ₂
任 - 洛液 (Ringer - Locke)	用于心耳、心脏	9.0	0.42	0.24	0.5						1.0	O ₂
台氏液 (Tyrodes)	用于哺乳动物离体肠	8.0	0.2	0.2	1.0	0.05			0.1		1.0	O ₂
克氏液 (Krebs)	用于肝、脑、肾、脾和肺	6.6	0.35	0.28	2.10		0.162	0.294			2.0	O ₂ + 5% CO ₂
克 - 亨氏液 (Krebs - Henseleit)	用于大白鼠肝脏	6.92	0.35	0.28	2.10		0.16	0.29		充 10 min	2.0	O ₂ + 5% CO ₂
Dejalon 溶液	用于减少大白鼠子宫活动	9.0	0.12	0.06	0.5				0.005		0.5	
邵氏液 (Thornton)	哺乳动物离体肺	1.65	0.46	0.05	2.52	0.25			0.022			
Goodwin 溶液	用于蛔虫	8.0	0.2	0.2	0.15	0.5			0.1		5.0	

说明: 1. 上表中各种生理溶液的含量、成分和用途各家主张不一, 但均大同小异。

2. 在配制含钙溶液时, 应将 CaCl₂ 单独溶解并充分稀释后, 再与其他成分配成的溶液相混合, 否则可能导致碳酸钙或磷酸钙沉淀析出。

3. 葡萄糖应在临用时加入, 以免滋长细菌。

4. 最后定容至 1 000 ml。