

中药药理实验方法

陈 奇 主编

人民卫生出版社

全国高等医药院校应用教材

中药药理实验方法

主 编:陈 奇(江西中医学院 教授)

副主编:沈映君(成都中医学院 教授)

孙学蕙(贵阳中医学院 教授)

张世玮(南京中医学院 教授)

徐秋萍(北京中医药大学 教授)

赵 一(广西中医学院 教授)

郑有顺(第一军医大学 教授)

主 审:周金黄(军事医学科学院 教授)

王建华(广州中医学院 教授)

王筠默(上海中医药大学 教授)

姜名瑛(北京中医药大学 教授)

江苏工业学院图书馆
藏书章

人 民 卫 生 出 版 社

(京)新登字 081 号

图书在版编目(CIP)数据

中药药理实验方法 / 陈奇主编. — 北京: 人民卫生出版社, 1994

ISBN 7-117-02173-X

I. 中… I. 陈… II. 中药学: 药理学-实验-方法 IV.
R285.5-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (94) 第 12616 号

中药药理实验方法

陈奇 主编

人民卫生出版社出版
(北京市东城区天坛西里 10 号)

人民卫生出版社印刷厂印刷
华书店北京发行所发行

787×1092 毫米 16 开本 14 $\frac{1}{4}$ 印张 322 千字

1994 年 12 月第 1 版 1994 年 12 月第 1 版第 1 次印刷
印数: 00 001—8 500

ISBN 7-117-02173-X/R · 2174 定价: 12.30 元

编委名单(以单位笔划为序)

广州中医学院	王建华	李 锐	李育浩
广西中医学院	赵 一	林启云	谢金铤
山东中医学院	张其兰	王树荣	
山西中医学院	侯景伦		
中国医科大学	赫梅生		
中国药科大学	徐黉本	杭秉茜	李耐三 徐 强
天津中医学院	胡觉民		
内蒙古医学院	程振芳		
长春中医学院	纪淑芳		
云南中医学院	王履信	洪泽溥	
北京中医药大学	徐秋萍	孙建宁	
北京医科大学	林志彬	李顺成	
北京联合大学中医药学院	程德新		
辽宁中医学院	尤春来	刘守义	
甘肃中医学院	黄正良	崔祝梅	
江西中医学院	陈 奇	连晓媛	毕 明
西安医科大学	车锡平		
沈阳药科大学	于庆海	邹莉波	
安徽中医学院	刘青云		
成都中医学院	沈映君	王一涛	
陕西中医学院	李石兰		
河北中医学院	楚 立		
河南中医学院	张 瑜		
贵阳中医学院	孙学蕙		
南京中医学院	张世玮	陆 茵	
浙江中医学院	吴克让	沈梅贞	俞丽霞
第一军医大学	戴堃堂	郑有顺	
湖北中医学院	张世芳	顾崇刚	
湖南中医学院	周雪仙		
福建中医学院	吴符火		
黑龙江中医学院	常福久	周 敏	
黑龙江商学院	季宇彬		

序

我国中医中药学有几千年的发展史,自成完整的思想体系,在历代临床实践中积累了丰富的药效学经验。其中中药及其方剂是祖国医学的精华,其药理作用需要我们不断加以研究与探索。

采用现代药理学的实验研究方法,探索中药药效学的规律,从本世纪二三十年代开始,已逐渐形成一门现代医学科学。但是,由于历史条件的限制,早期学者往往以西方药理学的思路为研究中药药理学的指导思想。50年代以来,全国各省市相继建立中医学院、中医药研究所,广大药理学工作者自觉地以中医理论为指导以中药功效为目标,用现代药理学实验方法进行单味药与方剂的研究,取得显著进展。近年来,随着教育科技改革的进展,在一些中医学院的中药系及药科大学的中药学院、系,开设了中药药理学的课程,这无疑是一项具有深远战略意义的创举。但也须认识到,这与继承和发扬祖国医药学这一伟大宝库的历史使命,适应中医药事业发展的需要,还有一定差距,仍须继续努力。

为了适应教学的需要,全国28所高等医药院校合作编写了这本《中药药理实验》。在编写过程中,执笔者注意到以中医基本理论为指导,充分应用现代医药研究方法,将中药药理学引入现代实验科学的范畴;在内容的取舍上,能密切结合我国中医药教育的现状,既选择一些简单的基本实验,又安排了比较复杂的实验,既着眼于当前,又考虑到未来,立意是很好的。

诚然,在我国如何开展中药药理的教学及科学研究,仍然需要在实践中不断加以探索。而本书的出版必将有助于推动中药药理和教学及科研工作的发展,并为缩小中药药理研究与客观形势要求的差距,作出应有的贡献。

周金黄 王建华

前 言

本书以中医药基本理论为指导,按中药功效分类,应用现代医药学研究方法,以体现中医药现代化和中西医结合的特色是编写的指导思想。本书主要供高等医药院校本科学士生“中药药理学”实验教学和中医药院校的毕业实习用,也可供中药学、方剂学、中药炮制学及中西医结合课程的实验教学用,亦可供中医药、中西医结合进修生、研究生的教学使用。几年来实践证明,这本教材不但适用于教学,也被科研和研制新药所采用。本书既有中医药基本实验知识、基本实验方法和简单的实验,也有比较复杂实验,既有单味中药及其有效成分或单体的实验,也有中药复方的实验。实验方法有难有易,各校可根据自己条件和需要进行选择。

本书上一版由 28 所院校合作编写,1992 年获第二届全国高等学校优秀教材奖。本次出版扩大到 32 所院校参加编写。得到了国家教委、卫生部、国家中医药管理局以及中国药理学会、中国中药药理学会和各院校的支持。审定稿会在中国中医研究院召开,得到中国中医研究院中药研究所的支持。特别要提出的是本书 1988 年出版时,得到著名医药学家周金黄教授和中国中药药理学会理事长王建华教授大力支持,并为本书写了序言,这次出版仍放在本书最前面。一些老教授及一些作者由于退居教学第二线,或离开了教学工作,一些年富力强的同志参加到教学第一线,增加了一些新编委。故本书出版,对编写分工作了适当调整,除了保留这些老教授编委外,还对在第一次撰稿所作贡献的同志表示崇高的敬意。同时,内容也作了适当修改和补充,删去了部分内容,增加了一些新内容、新实验。

由于我们的水平有限,加上中药药理学在学术上还存在一些有待继续研究和探讨的问题。因此本书缺点、错误和不妥之处,殷切希望广大读者提出宝贵意见。

编 者

1994 年 7 月

编写说明

1. 本书各实验以1~2味中药或复方为代表,类似的实验方法在附注中介绍。
2. 本书所载中药名称以《中华人民共和国药典》为准,复方用传统方剂名称,部分为经验方及科研有效方剂。
3. 本书所载实验药物用量,系编者试验确定。但由于各地的实验条件不尽相同,动物对药物反应的差异,尤其是中药品种、产地、质量、保管、制备等多种因素的影响,用量可根据具体情况适当调整。中药制备及复方含量均请按书中所定。
4. 由于动物对药物反应存在个体差异,个别例子的情况不一定符合于大群动物的总趋势,因此,每次实验结束时应将各组的结果汇集进行统计处理。科研实验则应根据实验设计需要的动物数,随机分配。实验动物的体重和性别如无特殊要求,均参见第三章规定。
5. 本书一些简单的实验,未将结果数据写出,由学生根据自己的实验结果统计处理。但由于中药反应比较复杂,实验势必要有参考结果,故对一些较难的实验,书中列出结果数据或曲线图像,以供参考。但实验者仍应根据自己所作的结果,写出报告。
6. 本书使用度量衡以法定计量单位为主,少数内容新旧单位并用,附录有常用新旧计量单位换算表以便换算。
7. 本书 P 值以星号表示如下: * 示 $P < 0.05$, ** 示 $P < 0.01$ 。

目 录

第一章 中药药理实验基本知识	(1)
一、中药药理实验报告基本要求	(1)
二、中药药理实验样品注意事项	(1)
三、中药药理实验制剂的浓度表示法	(2)
第二章 中药药理实验研究设计的基本知识	(3)
一、实验设计的原则和内容	(3)
二、实验设计的基本要求	(3)
三、常用的设计方法	(4)
四、新药(中药)研制与实验设计	(7)
五、中药药理实验研究设计的特殊性	(8)
第三章 常用实验动物的级别、选择、捉持、给药和编号标记方法	(10)
一、实验动物的级别	(10)
二、实验动物的选择、捉持和给药方法	(10)
三、编号标记方法	(14)
第四章 中药药理实验常用的统计方法	(16)
一、量反应(计量)资料	(16)
二、质反应(计数)资料	(19)
第五章 中药的毒性和制剂安全实验	(23)
一、急性毒性试验	(23)
二、长期毒性实验	(29)
三、特殊毒性实验	(30)
四、制剂安全试验	(30)
实验 5-1 热原反应实验	(32)
第六章 中药药动力学实验	(34)
实验 6-1 青蒿琥酯的药动力学实验	(36)
实验 6-2 陆英对小白鼠镇痛和毒性的药动力学实验	(38)
实验 6-3 生脉散改善小白鼠心肌营养性血流量的药效及动力学实验	(41)
实验 6-4 连翘的小白鼠急性累计死亡率法测定表观药动力学参数	(43)
实验 6-5 参茸白凤丸对小白鼠的毒性动力学实验	(45)
第七章 解表药实验	(46)
一、发汗实验	(46)
实验 7-1 麻黄配桂枝对大白鼠足跖部汗液分泌的影响(着色法)	(46)
实验 7-2 麻黄汤、银翘散对大白鼠足跖部汗液分泌的影响(定量测定法)	(47)
实验 7-3 麻黄、麻黄配桂枝对大白鼠足跖部汗液分泌的影响(组织形态观察法)	(49)
二、解热实验	(50)

实验 7-4 柴胡对发热家兔的解热作用	(50)
第八章 清热药实验	(51)
一、清热实验	(52)
实验 8-1 鱼腥草对干酵母所致大白鼠发热的清热作用	(52)
二、抗感染实验	(53)
实验 8-2 千里光的抗菌作用	(53)
实验 8-3 黄连解毒汤对金葡菌感染小白鼠的影响	(54)
三、对免疫功能影响的实验	(55)
实验 8-4 大青叶、金银花、蒲公英和鱼腥草对小白鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞 能力的影响	(55)
实验 8-5 鱼腥草对小白鼠炭粒廓清功能的影响	(56)
实验 8-6 大青叶、蒲公英及它们配伍对小白鼠玫瑰花结形成细胞的影响	(57)
第九章 泻下药实验	(59)
实验 9-1 生大黄、制大黄和大承气汤对小白鼠排便时间和数量的影响(炭末法)	(59)
实验 9-2 生大黄、制大黄以及大黄、芒硝配伍对小白鼠小肠运动的影响(炭末法)	(61)
实验 9-3 大承气汤对大白鼠大肠运动的影响	(61)
实验 9-4 调胃承气汤对家兔在体回肠活动的影响(悬吊法)	(63)
实验 9-5 大黄对小白鼠不同肠段水份吸收的影响	(64)
实验 9-6 大黄、芒硝、郁李仁对家兔肠道作用机理的分析	(65)
第十章 祛风湿药实验	(67)
一、炎性肿胀实验	(68)
实验 10-1 秦艽对蛋清致大白鼠后足跖肿胀的影响	(68)
实验 10-2 复方羌活汤对佐剂所致大白鼠足肿胀的影响	(69)
实验 10-3 秦艽对二甲苯致小白鼠耳廓肿胀的影响	(70)
二、棉球肉芽肿实验	(71)
实验 10-4 稀莪草和稀桐丸对大白鼠棉球肉芽肿的影响	(71)
三、毛细血管通透性实验	(72)
实验 10-5 五加皮对小白鼠腹腔毛细血管通透性的影响	(72)
四、白细胞游走实验	(73)
实验 10-6 五加皮对大白鼠胸腔白细胞游走的影响	(73)
第十一章 利水渗湿药实验	(74)
一、利尿实验	(74)
实验 11-1 五苓散对小白鼠尿量的影响(滤纸法)	(74)
实验 11-2 五苓散对大白鼠的利尿作用(代谢笼法)	(75)
实验 11-3 金钱草对家兔的利尿作用(导尿管法)	(76)
二、治疗泌尿道结石药物的实验	(77)
实验 11-4 复方金钱草对大白鼠肾结石的影响	(77)
实验 11-5 八正散对家兔输尿管动作电位的影响	(77)
第十二章 温里药实验	(79)

一、心脏实验	(79)
实验 12-1 生附子、制附子和四逆汤对离体蛙心的作用(斯氏法)	(79)
实验 12-2 生附子和制附子对离体蛙心的作用(八木氏法)	(81)
实验 12-3 附子对家兔离体心脏的作用	(83)
实验 12-4 附子对豚鼠心脏乳头肌的作用	(84)
实验 12-5 附子对大白鼠离体心房的作用	(86)
二、循环系统实验	(87)
实验 12-6 附子对麻醉犬心脏血流动力学的影响	(87)
实验 12-7 四逆汤对大白鼠低血压状态的升压作用	(90)
第十三章 理气药实验	(92)
一、离体肠管实验	(92)
实验 13-1 青皮、枳壳和四逆散对家兔离体肠平滑肌的影响	(92)
二、在体肠实验	(94)
实验 13-2 木香、枳壳对家兔在体肠运动的影响(水囊法)	(94)
三、胆汁分泌实验	(94)
实验 13-3 青皮、香附、茵陈蒿汤对大白鼠胆汁分泌的影响	(94)
实验 13-4 加味茵陈蒿汤对家兔胆总管生物电和胆汁流量的影响	(95)
四、胃机能实验	(97)
实验 13-5 枳实对家兔胃电的影响	(97)
实验 13-6 陈皮及痛泻要方对大白鼠胃液分泌的影响	(99)
实验 13-7 延胡索抗大白鼠实验性胃溃疡的作用(应激反应法)	(101)
实验 13-8 黄芪建中汤抗大白鼠实验性胃溃疡的作用(幽门结扎法)	(102)
实验 13-9 木香及痛泻要方对盐酸-乙醇致大鼠急性胃粘膜损伤的影响	(104)
五、子宫实验	(105)
实验 13-10 香附对离体小白鼠子宫活动的影响	(105)
实验 13-11 香附及益母草对家兔在体子宫活动的影响	(106)
六、镇痛实验	(107)
实验 13-12 延胡索及金铃子散对小白鼠的镇痛作用(热板法)	(107)
实验 13-13 金铃子散对小白鼠的镇痛作用(扭体法)	(108)
第十四章 止血药实验	(110)
一、凝血时间实验	(111)
实验 14-1 三七对家兔凝血时间的影响(试管法)	(111)
实验 14-2 大蓟对小白鼠凝血时间的影响(玻片法)	(111)
实验 14-3 三七和三七伤药片对小白鼠凝血时间的影响(毛细玻管法)	(112)
二、凝血因子实验	(113)
实验 14-4 三七对家兔血浆复钙时间的影响	(113)
实验 14-5 三七对家兔凝血酶原时间的影响	(114)
三、血管收缩实验	(115)
实验 14-6 小蓟对离体兔耳血管的作用	(115)

实验 14-7 小蓟和紫珠草对离体兔主动脉条的作用	(116)
第十五章 活血化瘀药实验	(118)
一、冠脉流量和血流动力学实验	(119)
实验 15-1 丹参、川芎和复方丹参对离体豚鼠心脏冠脉流量的影响	(119)
实验 15-2 川芎对麻醉犬心脏血流动力学及冠脉流量的影响	(120)
实验 15-3 延胡索对脑垂体后叶素致豚鼠急性心肌缺血心电图的影响	(123)
实验 15-4 丹参和冠心Ⅱ号复方对家兔急性心肌梗塞范围的影响(N-BT 染色法) ...	(124)
二、微循环实验	(125)
实验 15-5 血府逐瘀汤对小白鼠耳廓微循环的影响	(125)
实验 15-6 血府逐瘀汤对大白鼠肠系膜微循环的影响	(127)
三、血液流变学实验	(128)
实验 15-7 丹参和川芎对大白鼠急性“血瘀”证的血液流变学影响	(128)
实验 15-8 丹参和复方丹参对大白鼠血小板聚集的影响	(131)
四、抗血栓形成实验	(132)
实验 15-9 当归抗大白鼠血栓形成的作用	(132)
实验 15-10 丹参复方对胶原蛋白-肾上腺素诱发小白鼠体内血栓形成的抑制作用 ...	(133)
实验 15-11 消栓通络片对大白鼠在体血栓形成的影响(颈总动脉温度测定法)	(134)
第十六章 止咳、化痰、平喘药实验	(136)
一、止咳实验	(136)
实验 16-1 桔梗对小白鼠的止咳作用(序贯法)	(136)
实验 16-2 紫菀对小白鼠的止咳作用(潜伏期观察法)	(138)
实验 16-3 半夏对豚鼠的止咳作用(引咳法)	(140)
实验 16-4 紫金牛对猫的止咳作用	(140)
二、化痰实验	(141)
实验 16-5 远志对小白鼠的化痰作用(气管段酚红法)	(141)
实验 16-6 竹沥和桔梗对大白鼠排痰量的影响(毛细玻管法)	(143)
实验 16-7 竹沥对家兔离体气管纤毛-粘液流运动的影响	(143)
三、平喘实验	(145)
实验 16-8 马兜铃对离体气管平滑肌的影响(气管容积法)	(145)
实验 16-9 麻黄对豚鼠离体气管平滑肌的影响(气管螺旋条法)	(146)
实验 16-10 小青龙汤的平喘作用(喷雾致喘法)	(148)
实验 16-11 小青龙汤(去麻黄和半夏)对豚鼠支气管的作用(肺溢流法)	(149)
第十七章 安神药和平肝息风药实验	(152)
一、中枢神经系统实验	(152)
实验 17-1 酸枣仁对小白鼠的镇静作用(抖笼法)	(152)
实验 17-2 天麻、钩藤对小白鼠的镇静作用(活动计数法)	(154)
实验 17-3 天麻对小白鼠入睡个数的影响	(155)
实验 17-4 天麻成份香荚兰醇抗小白鼠惊厥的作用	(156)
二、降压实验	(157)
实验 17-5 钩藤和天麻钩藤饮降低麻醉犬血压机理的分析	(157)

实验 17-6 钩藤对大白鼠实验性高血压的影响(内分泌型)	(159)
实验 17-7 钩藤对大白鼠实验性急性肾型高血压的影响(肾动脉狭窄型)	(160)
第十八章 补益药实验	(162)
一、抗应激实验	(163)
实验 18-1 人参对小白鼠游泳时间的影响(抗疲劳实验)	(163)
实验 18-2 人参对小白鼠耐常压缺氧的作用	(164)
实验 18-3 人参对小白鼠耐减压缺氧的作用	(165)
实验 18-4 人参对小白鼠的耐寒作用	(166)
二、免疫功能实验	(167)
实验 18-5 灵芝多糖对小白鼠淋巴细胞增殖的影响	(167)
实验 18-6 当归补血汤对小白鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响	(168)
实验 18-7 人参对二硝基氟苯所致迟发型皮肤过敏反应的影响	(170)
三、肾上腺皮质功能实验	(171)
实验 18-8 益气温阳合剂对大白鼠肾上腺皮质功能的影响	(171)
四、代谢实验	(172)
实验 18-9 人参对小白鼠蛋白质、核糖核酸和脱氧核糖核酸合成的影响	(172)
实验 18-10 人参对饥饿小白鼠肝糖原含量的影响	(174)
第十九章 虚证动物模型和补虚药实验	(176)
一、“阴虚”、“阳虚”动物模型和补阴、补阳药实验	(176)
实验 19-1 生地、龟板对甲亢“阴虚”型小白鼠血浆 cAMP 水平的影响	(177)
实验 19-2 附子和肉桂对他巴唑致甲减“阳虚”型小白鼠血浆 cGMP 水平的影响	(178)
实验 19-3 地黄和黄芪复方对甲亢“阴虚”型小白鼠耐缺氧能力的影响	(179)
二、“气虚”动物模型和补气药实验	(180)
实验 19-4 大白鼠“气虚”模型和黄芪、人参的补气作用	(181)
三、“血虚”动物模型和补血药实验	(182)
实验 19-5 当归对失血性“血虚”小白鼠的补血作用	(183)
实验 19-6 当归对溶血性“血虚”大白鼠模型的补血作用	(183)
实验 19-7 女贞子及其有效成分对造血功能受损小白鼠的滋阴补血作用	(184)
四、“脾虚”动物模型和补脾药实验	(185)
实验 19-8 小白鼠“脾虚”模型和附子理中汤的作用	(186)
实验 19-9 四君子汤对利血平致“脾虚”小白鼠体温下降的影响	(188)
第二十章 抗衰老药实验	(190)
实验 20-1 何首乌延长果蝇寿命的实验	(190)
实验 20-2 红参对大白鼠肝匀浆脂质过氧化作用的影响	(191)
实验 20-3 淫羊藿对小白鼠血清中超氧化歧化酶活力的影响	(192)
实验 20-4 黄芪对老年大白鼠尿中羟脯氨酸含量的影响	(193)
实验 20-5 人参皂甙对老年大白鼠脑及肝脏脂褐素的影响	(195)
实验 20-6 复方党参对小白鼠记忆获得性障碍的改善作用(跳台法)	(196)
实验 20-7 灵芝对小白鼠记忆障碍的改善作用(避暗法)	(198)

实验 20-8 复方党参对小白鼠方向辨别的保护作用(水迷路法)	(199)
附录	(201)
一、中药药理实验常用仪器	(201)
二、实验动物与人用药量的换算	(205)
三、几种易变质药物溶液的配制和保存方法以及制剂防腐剂的应用	(208)
四、常用抗凝剂的配制、用法和选择	(209)
五、非挥发性麻醉药对实验动物的常用量	(210)
六、常用营养液的组成和配制	(211)
七、常用实验动物的生殖和生理常数	(212)
八、常用法定单位与非法定单位的换算	(212)
九、中药药理实验常用符号	(214)

第一章 中药药理实验基本知识

一、中药药理实验报告基本要求

1. 实验前应仔细阅读实验指导,做到心中有数。结合实验内容,复习有关理论知识。科研实验还应查阅有关文献资料,吸取他人经验。实验中应认真、仔细、耐心地观察所出现的各种现象,实事求是记录,切忌夹杂主观因素。应坚持一丝不苟,严谨的科学作风,决不允许抄袭别人的实验结果写报告。

2. 教学实验往往每次是取一种动物,一种方法写实验报告。科研实验则应事先设计好实验动物数,随机分组。新药研制还应设空白与已知药对照组。科研实验要说明药物的某一个作用,至少设2~3个以上剂量组,要两种以上的实验方法等。

3. 实验条件应详细、明确,如仪器型号、试剂规格、试剂的浓度、中药的品种、复方的组成、提取方法、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。

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

5. 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。

6. 讨论部分包括实验结果的分析、思考题的探讨、实验设计、实验方法及实验中出现的异常现象的分析、认识、体会和建议等。讨论应注意结合中医药理论。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尚存在的问题。

7. 实验结束应及时地整理和总结实验结果,写出报告。实验报告内容应包括实验名称、目的、原理、材料(包括仪器、药品、动物)、方法、结果、讨论及结论。科研实验报告还应前言,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。

二、中药药理实验样品注意事项

在进行单味中药或复方中药药理试验时,由于中药不同于西药,多数不是单一化学物,而是多种成分的综合作用或多种中药的综合作用。因此,在有效成分不明确的情况下,制备药理试验用的中药样品,应注意多种因素的干扰,影响实验结果。

1. 药材选择:中药品种、产地、采收季节、炮制加工、霉变虫蛀等多种因素可影响中药药理作用的实验结果,所以制备中药制剂应该首先对中药样品经过鉴定,选择合格中药材进行制备。如果是研究中药新药,受试药物应是处方固定,生产工艺及质量稳定,与临床研究所用药剂型相同,并应符合临床用药的质量标准。

2. 口服制剂:整体动物实验口服或十二指肠给药,对药材经加工的中成药制剂,如冲剂、浸膏、丸、丹、片剂等,可用蒸馏水或生理盐水配制成水溶液剂、混悬剂,必要时可加用增溶剂和助悬剂。糖衣片可先剥除包衣再配制。含挥发油的药材应先蒸馏取得挥发油,然后助溶或制成乳剂、混悬剂进行动物实验。若含有麝香、牛黄之类不便提取加工的药材,可

直接和水煎液配制成混悬液给药。

3. 离体实验和静脉注射:对用于离体实验和注射给药的中药制剂,进行药效学研究时,用不含赋形剂的提取物,应注意药物中的杂质、不溶物质、无机离子及酸碱度对试验的干扰。如制剂中含钙离子进行心脏强心试验,含钾离子进行离体心脏和平滑肌试验,含鞣质进行局部止血试验和抗菌试验,含胆碱、腺苷、鞣质和无机离子静脉注射进行降血压试验和血流动力学试验,获得阳性结果应持谨慎态度,常常不能反映药物的真实作用,可能为假阳性结果。因此,最好经过提取和处理。例如为防止阳离子干扰,提取物可通过阳离子树脂处理。必要时可提取有效部位或有效单体进行试验。血管内注射如用乳剂实验,乳剂为油/水型分散相粒子直径不能大于 $4\mu\text{m}$ 。油性注射剂,混悬剂则不可静脉给药。脑室和脊椎腔(椎管)注射用注射剂必须以纯水为溶媒,不能加入任何助溶剂及抑菌剂。眼用混悬剂药物微粒不能大于 $50\mu\text{m}$ 。一些药理试验为了除去供试药物中的鞣质、树脂、淀粉及其它杂质,水提取物加入高浓度的乙醇进行沉淀处理,注意这样同时也除去了多糖和蛋白质,如果进行免疫试验时,可能是该被试药物的有效成分。最好是根据中药含有不同的有效成分,采用不同的提取方法和处理方法,制备药理试验样品。

4. 特殊成分处理:如果要研究某中药的多肽、蛋白质、酶、糖蛋白和其它不稳定成分的药理作用,则需要在低温下制成被试药物或制成冻干剂。临用时加注射用水或生理盐水进行实验。

中药样品制备和配制的具体方法,可参考陈奇主编《中药药理研究方法学》(人民卫生出版社,1993年)以及其它中药化学、中药药剂学参考书。

三、中药药理实验制剂的浓度表示法

中药单味和复方制剂,一般以生药量浓度表示法。中药制剂名称在前,浓度在后,通常以 g/ml 表示液体制剂,以 g/g 表示固体制剂。如生附子水煎液 0.125g/ml 表示每毫升制剂中相当于含生附子量为 0.125g ,人参总皂甙 25mg/片 表示每片中含人参总皂甙 25mg 。

四逆汤水煎液 3g/ml (附子 9g 、干姜 9g 、甘草 12g ,煎成 10ml),表示每毫升制剂含有四逆汤总量的 3g 。

对分子量已经明确的有效单体可用 mol/L 浓度表示。

(江西中医学院 陈 奇)

第二章 中药药理实验研究设计的基本知识

实验设计是实验过程的依据,是实验数据处理的前提,也是提高实验研究质量的一个重要保证。严密而合理的实验设计,不但可对实验结果和误差有比较准确的估计,最大限度地获得丰富而可靠的资料,而且还可以减少人力,节省物力和时间,提高工作效率。因此,实验设计,从实验的研究过程来看,具有非常重要的意义。

一、实验设计的原则和内容

1. 明确实验研究目的:实验设计,首先应考虑的就是明确实验研究目的。根据实验的中心问题,进行实验内容设计,做到心中有数,有的放矢。

2. 确定实验组和对照组:实验组与对照组之间除了处理不同,其他条件均应相同,保持实验条件均衡或齐同条件对比的原则。

3. 确定实验方法、项目和指标:在实验设计中对要求观察的指标、项目和方法等都要有明确的规定和说明。要注意选择能反映被研究问题的本质(药物作用及其作用机理)的关键指标;且能用客观方法,定性或定量地加以测量,取得准确可靠的数据。

4. 确定实验对象数量:中药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。尽量研究各种接近中医临床的动物病理模型;按中医治疗原则,观察中药疗效。动物模型必须具备主要症状、体征,经化验和病理组织学等证实。但也不排除对正常动物或离体器官等的作用分析。由于动物实验和临床观察毕竟有差别,因此考虑用不同动物多种模型,往往也是必要的。要根据实验目的、方法和指标的要求决定实验动物、样本及数量。在教学实验中则可以将全实验室各组结果合并统计处理,以保证样本数量上的要求。一般小动物(大、小鼠)每组8~12只,较大动物(兔、狗)每组5~8只,但总量应符合统计要求。

5. 资料整理:将记录的资料进行必要的整理、分析,经过正确的统计处理,作出结论。

二、实验设计的基本要求

实验设计的三大原则是随机、重复和对照。

1. 随机:就是使每一个体在实验中都有同等的机会,随机遇分组或处理。以减少主观因素的影响或避免偏性误差,使样本的生物差异均衡地分配到各组中去。随机化的手段可采用编号抽签法,随机数字表和计算器的随机数字键。近年提出“均衡下的随机”,即将可控制的因素(如体重、性别等)先均衡地归类分档,然后在每一档中随机地取出等量动物分到各组,使难控制的因素(如活泼、饥饿、疲劳程度及性周期等)得到随机化的分配。

2. 重复:能在同样条件下,把实验结果重复出来,才算是可靠的实验。重复除增加可靠性外,也可知道实验变异情况。重复次数多少要根据实验要求和性质,主要药效指标稳定的实验,一般重复2~3次。

3. 对照:比较研究是科学实验不可少的条件,任何实验研究都不能缺少对照研究,只有对照才有比较的基础。没有比较,就难以鉴别,也就缺乏科学性,所以实验设计必须设立

对照组。对照组与实验组之间除用以实验的药物给予或不给予处理的区别之外,其他条件,如实验动物、实验方法、仪器、环境及时间等应一致。特别注意在动物实验中对照组与实验组要求挑选种属、性别、窝别、年龄、体重、健康状况等方面相同的动物,保证得出药物作用的准确结果。

根据实验研究的内容不同,可选用不同的对照形式,常用方法有以下4种:

(1)空白对照:是指在模拟实验组处理的“空白”条件下进行观察的对照。即除不用被研究的药物外,对照组的动物要经受同样的处理,如给予生理盐水或不含药物的溶媒。这种对照又可称“阴性对照”。其优点是可比性好。有时,也在不给任何处理的对象上取得观测值,例如各生理常数,称之为正常对照。

(2)标准对照:指以标准值或正常值作为对照,在标准条件下,将已知经典药物与实验药进行对照。又称“阳性对照”,必要时可设两个作用机理不同的阳性对照药物。

(3)同因素不同水平的对照:系在实验组间分若干剂量组互为对照进行对比,说明量效关系或药效的剂量依赖性,一般设2~3个剂量组。

(4)自身前后对照:上述三种对照都属于组间对照。有的实验可在对象自身上进行给药前后的对照比较,其前提是前后条件一致,且指标对时间稳定。这在急性实验时易于满足,但慢性实验时,难以保证,故尚需作组间对照来说明问题。

三、常用的设计方法

1. 单组比较设计:这种设计是以动物作自身对照,即在同一个体上观察给药前后某种观测指标的变化,如药物对体重、血压、体温等的给药前后比较。本法优点是能消除个体生物学差异。

2. 配对比较设计:实验前将动物按性别、体重、年龄、窝别或其他有关因素加以配对,以基本相同的两个动物为一对,配成若干对,然后将每一对动物随机分配于两组中。两组的动物数、性别、体重等情况基本相同,取得均衡,减少误差及实验动物的个体差异。

3. 随机区组设计:是配对比较设计法的扩大。将全部动物按体重、性别及其他条件等分为若干个组。每组中动物数目应与拟划分的组数相等或为其倍数;体质条件相似;再把每个区组中的每一只动物进行编号,利用随机数字表将其分配到各组。

如把小鼠24只,按随机区组分成A、B、C、D4组。先按小鼠的性别、年龄、体重等分成6个区组,每区组有4只情况相似的小鼠。依次编号,第一区组4只小鼠编为1、2、3、4号,第二区组编为5、6、7、8号,余类推。接着在随机数字表任意指定一个起点,如指定第20行第一个数字为起点,从横的方向抄录数字,先抄三个数字31、16、93为随机分配第一区组小鼠之用。然后将这三个数字分别以4(组数)、3、2(3、2为余下组数)除之求余数,若能整除时,余数取除数。则第一个数31,除以4,余数为3,将1号鼠分到C组(第三组);第二个数16,除以3,余数为1,将2号鼠分到A、B、D、三个组的A组(第一组);第三个数93,除以2,余数为1,将3号鼠分到剩余B、D组的B组(第二组);最后将4号鼠分到剩余的D组(第四组)。第一区组分配完后,再继续抄录随机数字,用相同方法将其余各区组小鼠分到各组中(第20行数字抄录完后继续抄第21行数字)。结果如表2-1。