

中草药有效成分的研究

(第二分册)

药物筛选方法



人民卫生出版社

中草药有效成分的研究

(第二分册)

药物筛选方法

中国医学科学院药物研究所 编

人 民 卫 生 出 版 社

中草药有效成分的研究

(第二分册)

药物筛选方法

开本：787×1092/32

印张：7

字数：152千字

中国医学科学院药物研究所 编

人 民 卫 生 出 版 社 出 版

• 北京市宣武区迎新街100号 •

北 京 印 刷 二 厂 印 刷

新华书店北京发行所发行 • 各地新华书店经售

统一书号：14048·3294

1972年12月第1版—第1次印刷

定 价：0.42元

印数：1—130,700

毛主席语录

中国医药学是一个伟大的宝库，
应当努力发掘，加以提高。

把医疗卫生工作的重点放到农村
去。

人类总得不断地总结经验，有所
发现，有所发明，有所创造，有所前
进。

目 录

第一章	绪论	1
第二章	药理工作者的几种基本统计方法	14
第三章	药物毒性实验方法	46
第四章	新药的临床估价	63
第五章	治疗慢性支气管炎药物的筛选方法	72
第六章	抗流感病毒药物的筛选方法	81
第七章	治疗高血压药物的筛选方法	89
第八章	防治动脉粥样硬化药物的筛选方法	95
第九章	强心药的筛选方法	109
第十章	抗肿瘤药物的筛选方法	113
第十一章	避孕药物的筛选方法	119
第十二章	防治血吸虫病药物的筛选方法	129
第十三章	抗疟药物的筛选方法	132
第十四章	抗钩端螺旋体病药物的筛选方法	137
第十五章	抗菌药物的筛选方法	142
第十六章	抗沙眼病毒药物的筛选方法	153
第十七章	驱蛔虫药物的筛选方法	158
第十八章	治疗矽肺药物的筛选方法	160
第十九章	治疗关节炎药物的筛选方法	167
第二十章	止血药物的筛选方法	170
第二十一章	催眠镇静药物的筛选方法	174
第二十二章	解热药的筛选方法	178

第二十三章	镇痛药的筛选方法·····	180
第二十四章	神经肌肉阻断药的筛选方法·····	184
第二十五章	解痉药的筛选方法·····	191
第二十六章	利尿药的筛选方法·····	195
附录一	几种生理盐溶液和培养液·····	199
附录二	常用抗凝剂·····	200
附录三	常用非挥发性麻醉药的用法和用量·····	201
附录四	一些药物的半数致死剂量·····	202
附录五	动物常见的传染病·····	215

第一章 绪 论

一、在中草药研究工作中药理实验的任务

“中国医药学是一个伟大的宝库，应当努力发掘，加以提高。”我国丰富的中草药资源是广大群众用以防治疾病的重要武器。中草药不但在现有的药物中占有重要的地位，而且在药物的今后发展中也有很大的意义——有些中草药经过剂型改进或有效成分的分离和提取，可以提高疗效，降低毒性和副作用，成为更好的药；有些植物经过人民群众的实践将成为新药。在改进剂型、分离提取有效成分或认识一个新药的过程中，药理实验的配合是很重要的。通过药理实验可以解决以下问题：

（一）通过药理实验的筛选来寻找新药；观察找到的新药的作用性质和强度，并与已知药进行比较；了解它的副作用和毒性以及寻求减少副作用和毒性的方法。

（二）观察新剂型的疗效是否有所提高，副作用和毒性是否有所降低。

（三）检查哪个成分的作用强、疗效高，哪个成分的毒性小、副作用少。

（四）研究药物的作用原理和体内代谢等具有指导意义的理论问题。

以上就是在中草药研究工作中药理实验的任务。

研究一个药物（新药、新剂型、提取的成分）的步骤通常是：

（一）先观察它有什么作用，特别是有没有我们所要求的

作用，并且可以和作用或用途相似的已知药物进行比较，比较它们在性质和强度方面的异同，借以判断新药是否比现有的药物具有某些优点。

(二) 在肯定了药物的作用后，应该观察其毒性和副作用，以便判断它有无用于临床的价值，必要时也可与作用或用途相似的已知药进行比较。

(三) 当一个作用肯定、毒性和副作用不大的药物被推荐于临床后，应该进行临床疗效、副作用、毒性、适宜剂量、适宜疗程等方面的观察，从而判断这个药物的临床价值，并建立使用方法。

上述第一点的内容见第五章至二十六章，第二点见第三章，第三点见第四章。在判断药物的作用、毒性和临床疗效时，统计学方法的运用也是不可少的；这一问题也在第二章中作了简要的介绍。本书的任务只限于介绍一个药物从实验室到临床应用的初步研究方法，不包括进一步的理论研究。所以关于作用原理和体内代谢的研究方法从略。

二、药理实验的一般方法和技术

(一) 动物实验的意义

用动物进行实验是现代医学的常用方法，也是进行药理实验的主要方法。前文所述药理实验的各项任务都可通过动物实验来完成或基本完成。进行动物实验时可以根据目的和要求进行实验设计，可以控制实验条件，可以牺牲动物采取组织和样品进行化验，可以有意识地使动物中毒，观察药物的毒性。这样就可以较快、较系统地对于一个药物的作用和毒性有所认识。这些认识可以使我们比较正确地考虑那个药物能否用于临床；如能用于临床也可以帮助我们比较准确地考虑适应症、禁忌症、剂量和用法，以及使用中应注意的事

项。所以,动物实验不但可以帮助我们较快地认识一个药物,也是我们把新药用于人体时的重要参考。

然而,药物在动物引起的反应和它在人体所引起的反应是否一致或比较近似呢?这是进行动物实验的前提,是应该明确回答的问题。首先,应该肯定动物实验的价值。过去的经验说明药物在人体和在动物,特别是哺乳类动物,所表现的作用和毒性在大多数情况下是比较一致的或者说是相似的。所以进行动物实验是我们认识一个药物的比较方便和可靠的途径和方法,也是主要的途径和方法。动物实验的结果往往可以作为我们把一个新药用于人体时的依据和重要参考。我们今天所用的药物就有不少是先通过动物实验认识了它们的性质后才用于临床的,如近几年介绍到临床的新药降压灵、延胡索乙素、山莨菪碱等。在对一个植物药做进一步研究时,如在分离和确定一个植物药的有效成分的工作中,用动物进行药理实验来观察和比较各个成分的作用、毒性等也很有必要。

另一方面,也应该看到动物实验有其局限性。这种局限性表现在几个方面:

1. 药物的某些作用在动物实验无法观察,如药物缓解头晕、头痛或肌肉酸痛的作用无法在动物进行观察。
2. 药物对精神状态的影响在动物有时不容易观察。
3. 有些药物对动物和对人体的作用不一致或差别较大,如丹皮酚虽然在高血压狗有降压作用,但在高血压病人却无明显降压效果。
4. 在一般情况下,人类对药物的反应较动物更为敏感,对药物毒性的耐受性也较动物小。这一量的差别也是必须注意的。为了弥补动物实验的局限性,在观察药物的作用时可

以选用一种以上的动物模型或一种以上的实验方法。

（二）动物的选择

在药物研究工作中常用的动物有青蛙、蟾蜍、小白鼠、大白鼠、兔、豚鼠、猫、狗和猴等。

由于工作的目的和要求不同，也因为不同的动物具有不同的特点，所以在不同的实验工作中也往往采用不同的实验动物。为了对这个问题能有比较具体的认识，下面就将上述几种动物的用途举几个例子说明如下：

青蛙和蟾蜍是我国夏秋季节很多地区都常见到的动物，容易捕捉，也容易养活，使用起来比较经济方便。青蛙和蟾蜍的心脏在离体情况下仍可有节奏地搏动很久，所以常用来研究药物对心脏的作用。青蛙和蟾蜍的腓肠肌和坐骨神经可以用来观察药物对周围神经或对横纹肌或对神经肌肉接头的作用。青蛙的腹直肌还可以用于鉴定胆碱能药物的作用。

小白鼠是实验室最常用的一种动物。小白鼠便于大量人工繁殖，所以适合于需用大量动物的实验，如药物筛选、半数致死量、药物的效价比较等。用人工接种的方法或用化学致癌物可以在小鼠引起肿瘤，所以小白鼠也很适合抗肿瘤药物的研究。小白鼠的繁殖能力很强，妊娠期仅 20 天左右，因而也是避孕药研究工作中用的较多的动物。小白鼠可以感染血吸虫、疟疾、马锥虫、流行性感胃和一些细菌性疾病，因而在实验治疗中也用得较多。

大白鼠除了比小白鼠体形大以外，其他方面都与小白鼠相近，用途也与小白鼠相似。有些实验需要较大的体形，这时用大白鼠就比较方便，例如可以用大白鼠的踝关节进行关节炎的药物研究，也可以用大白鼠直接记录血压，或用大白鼠作胆管插管收集胆汁等，而这些都是用小白鼠不便于进行

的。

豚鼠也是较常用的动物。豚鼠对组织胺很敏感，所以在平喘药和抗组织胺药的研究中常用豚鼠。豚鼠对结核菌也比较敏感，因而常用于结核病的研究工作。

家兔是在各地都比较容易得到的动物，也容易饲养。需要较大的动物时，往往用家兔，如直接记录血压。成年雌兔是诱发排卵，用来观察药物对排卵的影响比较方便，是避孕药研究工作中常用的动物。检查热源和研究解热药的工作也用家兔。家兔的心脏在离体情况下仍可搏动很久，是观察药物对哺乳类心脏直接作用的较合适的一个模型。

猫和兔的头的形状都比较一致（不象狗的头部形状彼此差别那样大），头部表面与脑的部位的关系比较固定，需要脑内给药来观察药物的作用，或需要往脑内插电极来观察脑电活动时，猫和兔都是可以用的。但是猫脑比兔脑约大一倍，因而做这方面的工作用猫比用兔更适合。猫的血压比较稳定，观察血压反应时用猫也是很合适的。兔的血压反应不够稳定，用来观察血压反应不如猫。

狗是常用的实验动物中比较大的。在需要较大动物时常常用狗，如观察药物对冠状动脉血流的影响就常用狗。狗可以通过训练使其与人合作，很适用于慢性实验，特别适用于需要训练的实验，如条件反射、高血压的实验治疗、用手术做成胃瘘、肠瘘等观察药物对胃肠蠕动和分泌的影响等。在进行临床前毒性实验时，狗也是最常用的。

猴虽然比较贵而且难得，但它在生物学上最接近于人，猴的高级神经也比较发达。在观察药物对行为的影响和临床前的毒性观察中也常要用猴。

（三）剂型

在动物实验中，常用的药物剂型有散剂、水溶液、油溶液、乳剂和混悬液。

1. 散剂：有些药物可以制成细粉，放在食物上或混在饲料中喂动物。这个方法用于大动物口服给药是个比较简便的方法，例如把药物放在少量的肉上喂猫或狗可以达到一次给一定量药物的目的，并且可以避免灌胃的麻烦。把药粉按一定比例拌在饲料粉中喂鼠、鸡或兔也是常用的。

2. 水溶液：是最方便和最常用的剂型。

3. 油溶液：不溶于水而溶于油的药物，如挥发油、甾体化合物，可以溶在食用植物油中灌胃或注射。

4. 乳剂：不溶于水而溶于油的药物除可作成油溶液外，还可以先加少量乳化剂研匀，然后慢慢加水搅拌，做成乳剂。常用的乳化剂有吐温60、吐温80等。

5. 混悬液：遇到水中不溶，特别是水中和油中都不易溶解的药物，可以把药物放在淀粉液或桃胶液中搅拌或研磨，做成混悬液。淀粉液用食用淀粉加水煮沸即成，桃胶液无需煮沸。淀粉液和桃胶液的浓度以既能将药物悬浮，又不太粘稠为宜。

此外，把丸剂、片剂或胶囊剂纳入动物的咽部，使其吞咽也可酌情使用。

（四）给药途径

常用的给药途径有经口给药（口服、灌胃）、皮下注射、肌肉注射、腹腔注射和静脉注射。选择给药途径应考虑到将来临床应用时的给药途径问题，这样可以提高实验结果的参考价值。决定给药途径的依据如下：

1. 根据药物的性质选择给药途径。经口给药是最常用的给药途径。具有刺激性的药物不适于皮下、肌肉和腹腔注

射，只能经口给药或静脉注射，但显然经口比静脉注射更为简便。植物药的粗提制剂也以经口给药较适宜。遇有在消化道破坏或吸收不好的药物则应注射给药。具有催吐作用的药物不宜经口给猫、狗和猴，因为动物呕吐时可能将部分药物吐出，影响实验的精确性，这时可采用注射的途径。鼠和兔不会呕吐，所以有催吐作用的药物仍可经口给鼠和兔。

2. 根据实验的要求选择给药途径。在要求药物的作用出现快的时候可以采用注射的途径，例如采用腹腔注射和静脉注射。注射油溶液或混悬液常能使药物的作用相对地延长；在需要延长药物的效果时可以采用。

3. 根据剂型选择给药途径。水溶液可以采用任何给药途径。油溶液可以经口给药，如需注射时，一般多用肌肉注射，但用小动物作实验时，由于肌肉太小，注射不便，也可采用皮下注射。乳剂和混悬液可以经口给药，也可以皮下注射或腹腔注射，但应注意是否能够从注射部位完全吸收。油溶液和混悬液都不应静脉注射。

除上述常用给药途径外，有时也采用局部用药、脑内给药、贴膏药等给药方法。

(五) 给药方法

1. 灌胃法：

(1) 鼠：将注射针头（7~9号针头适用于小鼠，给大鼠灌胃可用更大的针头）的尖端斜面磨齐，在针的中部弯一约30°角，用焊锡在尖端焊一圆头，注意勿堵塞针孔，即成喂针（见图1）。将喂针按在注射器上，吸入药液。左手抓住鼠背部及颈部皮肤，右手持注射器，将喂针自鼠口插入食道，即可将药液注入（见图2）。

(2) 狗：用木料制一含嘴——含嘴为一菱形棒，长约10~



图1 喂针

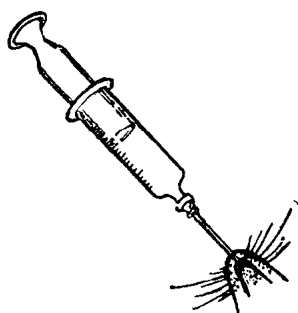


图2 给鼠灌胃

15 厘米，粗细应适合狗嘴，约 2~3 厘米，中间钻一小孔，孔的直径为 5~10 毫米。灌胃时将含嘴横放在狗嘴上下门牙之后，用绳将含嘴固定在狗的嘴部。将一橡皮导尿管自含嘴的小孔插入食道。将药液吸入一注射器，自导尿管注入食道，注入药液后再注入少量水，将导尿管中残存的药液冲入食道（见图 3，图 4）。注意勿将导尿管插入气管，插导尿管时应使管沿狗咽部后壁下行，插入后，可将导尿管外口置于一盛



图3 含嘴

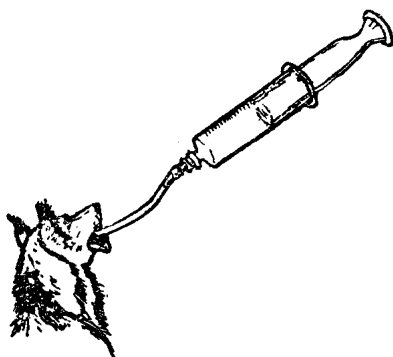


图4 给狗灌胃

水的烧杯中，如不发生气泡，即认为导尿管系在食道中，如不断出现气泡，应将导尿管抽出，另插。

用较小含嘴可给兔、猫或猴灌胃。

2. 皮下注射：

注射部位：大鼠和小鼠——腹部或后颈部皮下组织。

兔、猫、狗——背部两侧皮下组织。

猴——上肢皮下组织。

3. 肌肉注射：给兔、猫、狗和猴肌肉注射多注入臀部或股部肌肉。大鼠和小鼠肌肉较小，肌肉注射不常用，如需肌肉注射，也可注入股部肌肉。

4. 静脉注射：大鼠和小鼠可自尾静脉给药——将鼠固定在一铁丝罩或木盒内，使尾露在外面，将尾部洗净，擦干，用锋利4号针头刺入尾部两侧静脉。也可将大鼠股部内侧皮肤切开或将腹股沟皮肤切开，暴露股静脉或髂静脉，用锋利4号针头刺入给药。兔可自耳静脉给药（注意兔耳外缘的血管为静脉，中央的血管系动脉）。狗、猫和猴的静脉穿刺法见取血方法。

5. 腹腔注射：多自下腹部两侧注入。这样可避免刺伤肝、脾或膀胱。

（六）剂量的确定

在观察一个药物的作用时，应该给动物多大的剂量是实验开始时的一个重要问题。剂量太小，作用不明显，剂量太大，又可能引起动物中毒。可以按下述方法确定剂量：

1. 先用少量小鼠粗略地探索中毒剂量或致死剂量，然后用小于中毒量的剂量，或取致死量的若干分之一做为应用剂量，一般可取 $\frac{1}{10}$ ~ $\frac{1}{100}$ 。

2. 植物药粗制剂的剂量多按生药折算。

3. 化学药品可参考化学结构相似的已知药物,特别是化学结构和作用都相似的药物的剂量。

4. 确定剂量后,如第一次实验的作用不明显,动物也没有中毒的表现(体重下降、精神不振、活动减少或其他症状),可以加大剂量重复实验。如出现中毒现象,作用也明显,则应降低剂量重复实验。在一般情况下,在适宜的剂量范围内,药物的作用常随剂量的加大而增强(即剂量—作用关系)。所以,有条件时,最好用几个剂量做实验,以便获得关于药物作用的较完整的资料。如实验结果出现剂量与作用强度之间毫无规律可循时,则应慎重分析,甚至须考虑假阳性反应的可能。

5. 用大动物进行实验时,开始的剂量应比给鼠类的剂量小几倍以至十几倍,以后可根据动物的反应调整剂量。

(七) 取血方法

1. 小鼠和大鼠:

尾尖取血:将鼠固定在一铁丝罩内或木盒内,使尾露在外面。将尾尖剪掉,自尾根部向尖端按摩,血即自尾尖流出。本法适于采取小量血样。注意(1)只应剪去尾尖,如剪掉过多组织,反而不出血。下次取血时只需将尾尖的血痂剪掉即可。(2)鼠血凝固极快,如用全血,在血流出后应立即与抗凝剂混合;如用血球悬液,应立即与盐水混合。

心脏穿刺:将胸部毛剪掉,左手抓住鼠背及颈部皮肤,右手持注射器,用5号或6号针头,在心尖搏动最明显处刺入心室,将血抽出。如用全血,应预先在注射器内放抗凝剂。取血后鼠可能死亡。

眶内取血:用玻璃做一小管,一端为内径约1.5毫米之毛细管,毛细管逐渐扩大到另一端,使成喇叭形,玻璃管约

长1厘米即可(见图5)。预先将玻璃管浸入肝素溶液,取出干燥。左手抓住鼠背及颈部皮肤,右手持玻璃管,将细端刺入眼眶内眦约5毫米深,血即顺玻璃管流出。

断头取血:如在实验结束时取血,可剪掉鼠头,或剪断一侧颈总动脉,收集自颈部流出的血液。



图5 眶内取血管

2. 兔:将耳静脉割破取血。采血前将局部毛剪掉。如采血量较大,可先用棉球蘸二甲苯擦兔耳,使血管扩张。注意,二甲苯不宜太多,太多会损伤兔耳皮肤;擦二甲苯时用镊子夹住棉球,勿用手拿棉球,以防二甲苯损伤实验者皮肤和自皮肤吸收入人体;采血后压迫局部止血。

也可自心脏取血,方法与鼠心脏穿刺相似。

3. 狗:将狗前肢前面毛剪掉,一人手握狗的前肢肘关节以上部位,稍用力压迫,即可见肘下前面的静脉。另一人做静脉穿刺,穿刺时可用8号或9号针头。也可自后肢小腿外侧静脉取血。

作血球和血小板计数时,可将耳缘部的毛剪掉,然后刺破耳缘血管取血。作血小板计数时,为了减少血小板破坏,最好在耳缘涂少量液状石蜡。

4. 猴:可自前臂静脉或上臂静脉或小腿背侧静脉取血。用7号或8号针头。

5. 鸡:一人抓住鸡,使其侧卧,翻开上侧翅膀,将腋部羽毛拔掉,暴露翼静脉,做静脉穿刺。

(八) 取尿方法

收取尿的方法,一般系将动物放置在特置的笼子里,笼的下面有一大漏斗收集尿液。可参阅各论第廿二章《利尿药