

中药药理实验 方法学

主编 李仪奎 副主编 王欲茂 主审 周金贵 徐叔云

中药药理实验方法学

主 编 李仪奎

副主编 王钦茂

主 审 周金黄

徐叔云

上海科学技术出版社

内 容 提 要

本书是一本专门介绍中药药理实验方法的专著。分为上、中、下三篇。上篇为总论,介绍中药药理研究的一些基本原则和方法。中篇为中医治则、治法的药理研究方法,诸如益智、延年、活血化瘀、扶正固本等中药的实验方法,堪称为中医的精华。下篇为各种中药药理筛选方法,汲取了药理学的精华而用于中药药理的研究。每种方法介绍后,并附有运用实例,以便于读者掌握。本书对于中药科研、检验、教学、生产等工作,是一本很有价值的参考书。

中药药理实验方法学

主 编 李仪奎

副主编 王钦茂

主 审 周金黄 徐叔云

上海科学技术出版社出版

(上海瑞金二路450号)

新华书店上海发行所发行 上海东方印刷厂印刷

开本 787×1092 1/16 印张 36.75 插页 4 字数 856,000

1991年6月第1版 1991年6月第1次印刷

印数 1—5,000

ISBN7-5323-1987-3/R·561

定价:23.30元

前 言

本书由全国12所高等中医院校为主的28位专家、教授合作撰写,是一本为研究中医中药和开发新药服务的大型方法学参考书。既可供广大中医药研究工作者和药检工作者参考,也可作为中医院校的选修课教材。

本书强调科学性、先进性和实用性。随着学科的发展,中药药理学的实验技术和方法也在不断更新、发展。本书取材兼顾普及和提高两个方面。一方面考虑到为进行比较深入的中医药研究工作的需要,收载了一些具有当前先进水平的新技术、新方法;另一方面考虑到基层单位在仪器设备等方面的条件限制和中药粗制剂的实际情况,仍保留有基本的经典的方法。在介绍时,力求对各种方法的优缺点作出适当评价,以便读者根据各自的条件选择使用。

全书分上、中、下三篇。上篇总论,介绍中药药理研究中的一些基本原则和方法;中篇为中医治法、治则的研究方法,重点放在活血化瘀、扶正固本和清热解毒等几方面;下篇为各种药理作用的实验方法,尽量保持药理学实验方法本身的完整性。为了便于读者根据中药的功效主治为线索设计实验方案,本书在附录中还备有按中药功效选择实验方法的较为详细的索引,可供参考。

本书在每个方法之后,尽可能附以实例,以便读者在掌握这一方法时,在实验设计、实验结果的表达等各方面都有所借鉴,实例中的数据也可为切实掌握好这一方法提供重要参考。

本书作者较多,涉及交叉学科领域较广,在编写中可能存在不少缺点或问题,衷心欢迎读者批评指正。

李仪奎 王钦茂

1989.4.23

本书作者

(以姓名笔划为序)

王钦茂 安徽中医学院药理教研室
王惠康 上海中医学院中药化学教研室
孙建宁 北京中医学院药理教研室
孙 荫 上海市医学化验所
李仪奎 上海中医学院药理教研室
李 锐 广州中医学院药理教研室
陈长勋 上海中医学院复方药理研究室
陈 奇 江西中医学院中药药理教研室
陈建平 上海中医学院肿瘤药物研究室
沈映君 成都中医学院药理教研室
沈梅贞 浙江中医学院药理教研室
张世玮 南京中医学院药理教研室
张 颂 中国药科大学生理教研室
杭秉倩 中国药科大学中药药理教研室

周京滋 上海中医学院复方药理研究室
周 敏 黑龙江中医学院药理教研室
易宁育 上海第二医科大学细胞调控研究室
金惠明 上海第一医科大学病理生理教研室
胡月娟 上海中医学院药理教研室
姜名瑛 北京中医学院药理教研室
徐秋萍 北京中医学院药理教研室
徐莲英 上海中医学院药剂教研室
梁子钧 上海第一医科大学生物物理教研室
陶恭明 上海第一医科大学病理生理教研室
姚道云 安徽中医学院药理教研室
常福久 黑龙江中医学院药理教研室
曾广信 江西中医学院药理教研室
蒋斌斌 上海中医学院生化教研室

目 录

上篇 总 论

1 概 论	1
1.1 中药药理实验方法的一般介绍	1
1.1.1 离体实验	1
1.1.2 在体实验	1
1.2 实验设计中的几个问题	2
1.2.1 工作假设的形成	2
文献资料	2
初筛	3
1.2.2 实验指标	3
特异性	4
客观性和可测量性	4
1.2.3 预初试验	4
选定剂型	4
决定给药途径	4
确定剂量	4
估计正式试验的动物数及其计算公式	5
1.2.4 实验设计的基本原则	5
重复	6
随机	6
对照	8
1.2.5 实验结果的处理和分析	8
1.3 影响实验结果的因素	10
1.3.1 动物因素	10
种类和系别	10
年龄	10
性别	11
机能状态	11
1.3.2 环境因素	11
环境温度	11
昼夜节律	12
饲养密度	12
饮食	12
服习	12
1.3.3 药物因素	13

药物质量·····	13
剂型和给药途径·····	13
2 中医理论的药理学研究思路和方法举例·····	14
2.1 从临床现象找规律·····	14
寒热本质的实验·····	14
补益药对细胞调控系统作用的实验·····	15
2.2 从中药功效归类群体的共性中找规律·····	15
活血化瘀药对器官血流量的实验·····	15
清热方药的解毒作用实验·····	16
2.3 从共性的差异中找规律·····	16
和血、活血和破血实验·····	16
2.4 从已有中药药理研究的全部成果中找规律·····	17
中药的归经实验·····	17
2.5 建立中医“证”的病理模型·····	19
2.5.1 基本方法·····	19
2.5.2 模型的检验·····	20
3 中药复方药理实验方法·····	21
3.1 整方实验·····	21
3.1.1 方法原则·····	21
3.1.2 用途·····	21
3.1.3 评价·····	21
3.2 药物配伍后合并效应的估算方法·····	22
3.2.1 计量资料·····	22
等效半量相加法·····	22
概率相加法·····	22
代数和相加法·····	23
3.2.2 计数资料·····	24
ED ₅₀ 法(Weaver氏法)·····	24
3.3 各阶段配伍效应的实验方法·····	25
3.3.1 药剂学阶段配伍效应的观察方法·····	25
群药共煎和单煎共冲比较·····	25
3.3.2 药动学阶段配伍效应的观察方法·····	26
3.4 组方原则(“君、臣、佐、使”)的实验方法·····	26
正交设计析因分析法·····	26
4 中药药动学实验方法·····	30
4.1 有效成分明确的中药药动学实验方法·····	30
4.2 有效成分不明或缺乏定量分析方法的中药药动学实验方法·····	31
药理效应法·····	31
药物累积法·····	33

微生物指标法	34
5 实验用药制备方法	36
5.1 水煎剂的制备	36
5.2 浸膏剂的制备	36
5.2.1 浸提方法	36
5.2.2 制备方法	37
5.3 酊剂的制备	37
5.4 注射剂的制备	37
5.4.1 提取精制方法	38
5.4.2 助溶、增溶方法	39
5.4.3 配注射液方法	39
5.5 混悬剂的制备	40
5.6 乳剂的制备	40
6 中药各类成分总提取物的制备方法	42
6.1 总生物碱的制备	42
6.1.1 酸水提取法	42
离子交换法	43
沉淀法	43
6.1.2 醇类溶剂提取法	43
6.1.3 有机溶剂提取法	43
6.2 总黄酮类的制备	44
6.2.1 溶剂法	44
6.2.2 碱溶解酸沉淀法	44
6.2.3 聚酰胺吸附法	44
6.3 香豆素类化合物的提取	45
6.3.1 溶剂提取法	45
6.3.2 碱溶液提取法	45
6.3.3 水蒸汽蒸馏法	45
6.4 蒽醌类化合物的提取	45
6.5 强心甙类的提取	46
6.6 总皂甙的制备	46
6.7 挥发油的提取	47
6.7.1 水蒸汽蒸馏法	47
6.7.2 溶剂法	47
6.7.3 压榨法	47
6.8 有机酸类的提取	47
6.8.1 水提酸沉法	47
6.8.2 有机溶剂提取法	47
6.8.3 铅盐、钙盐沉淀法	47
6.8.4 离子交换法	47

6.9 多糖类的提取	47
------------	----

中篇 中医治法治则实验方法

7 活血化瘀实验方法之一——血液流变学实验	49
7.1 血液宏观流变学实验方法——血液粘度测定法	50
7.1.1 毛细管测定法	50
7.1.2 旋转测定法	55
7.1.3 抗凝血和促凝血作用的血液粘度测定法	57
7.2 血液微观流变学实验方法	59
7.2.1 红细胞压积测定法	59
Wintrobe压积管测定法	59
微量压积管测定法	59
7.2.2 红细胞聚集和分散功能测定法	60
低切变速率下的粘度测定法	61
推片镜检法	62
红细胞表面电荷测定法	62
超微量细胞电泳测定法	66
红细胞沉降率测定法	67
7.2.3 红细胞变形能力测定法	69
红细胞悬液的粘度测定法	69
高渗、等渗和低渗条件下的粘度测定法	69
低渗溶血测定法	70
离心沉积测定法	72
筛孔滤过测定法	72
激光衍射测定法	74
7.2.4 血浆、血清粘度测定法	75
7.2.5 血浆、血清渗透压测定法	76
冰点下降测定法	77
7.2.6 血小板粘附功能测定法	80
7.2.7 血小板聚集功能测定法	81
玻片法	82
体内循环血小板聚集比率PAR测定法	82
比浊测定法(血浆血小板聚集测定法)	83
电阻抗测定法(全血血小板聚集测定法)	84
血小板表面电荷测定法	86
8 活血化瘀实验方法之二——微循环实验	89
8.1 微循环观察指标	89
8.1.1 微血管形态	89
8.1.2 微血流动态	90
8.1.3 微血管周围变化	90

8.2 微循环实验主要设备和装置	91
8.2.1 光源	91
8.2.2 显微镜	91
8.2.3 显微摄影装置	91
8.2.4 显微电视接收装置	92
8.2.5 微血管口径测量装置	92
静态测量装置	92
动态测量装置	93
8.2.6 微循环血流速度测量装置	93
8.3 活体微循环观察方法	94
8.3.1 人体微循环观察方法	94
人体手指(足趾)甲皱襞微循环观察	94
人体眼球结膜微循环观察	96
人体舌尖微循环观察	98
8.3.2 动物微循环观察方法	98
家兔眼球结膜微循环观察	98
家兔肠系膜微循环观察	99
家兔肾脏微循环观察	101
家兔和猫肺微循环观察	101
大鼠软脑膜微循环观察	102
大鼠肝脏微循环观察	103
大鼠和猫心脏微循环观察	104
小鼠耳廓微循环观察	104
田鼠颊囊微循环观察	105
8.4 微循环活体观察注意事项	106
8.5 荧光血管造影技术	107
 9 活血化瘀实验方法之三——器官流量和缺血实验	 110
9.1 心肌缺血和流量实验方法	110
9.1.1 小鼠耐缺氧实验	110
小鼠耐常压缺氧实验	110
小鼠耐低压缺氧实验	111
9.1.2 Langendorff离体心脏灌流实验	112
9.1.3 心肌营养性血流量测定	114
9.1.4 抗药物性心肌缺血实验	115
抗脑垂体后叶素致急性心肌缺血心电图变化	1115
抗异丙肾上腺素引起心肌缺血心电图	116
9.1.5 在体冠脉流量测定	117
冠状静脉窦插管法	117
冠状动脉血流测定冠脉流量法	119
冠状动脉直接测量冠脉流量法	120
9.1.6 实验性心肌梗塞	121
大鼠离体心脏冠状动脉结扎法	123

麻醉大鼠冠状动脉结扎法	124
结扎兔冠状动脉前降支法	125
结扎狗冠状动脉前降支法	126
狗冠状动脉外气囊压迫梗塞法	128
9.2 脑血流量测定实验	129
9.2.1 狗颈内动脉流量测定法	129
9.2.2 狗椎动脉流量测定法	130
9.2.3 兔颈内动脉流量测定法	131
9.3 肾血流量测定实验	132
9.3.1 兔肾血浆流量测定法	132
9.3.2 狗肾血流量测定法	133
9.4 肝血流量测定实验	134
9.4.1 兔门静脉血流量测定法	134
9.4.2 狗肝血流量测定法	135
9.4.3 大鼠肝脏表面微循环血流量测定法	136
9.5 下肢及其他器官流量实验	137
9.5.1 离体后肢血管灌流实验法	137
9.5.2 在体后肢血管流量测定法	138
9.5.3 兔耳灌流实验法	138
10 活血化瘀实验方法之四——血瘀证动物模型建立方法	141
10.1 血液流变学改变和微循环障碍的血瘀证模型	141
10.1.1 高分子右旋糖酐静脉注射造型法	141
10.1.2 改良高分子葡聚糖静脉注射造型法	142
10.1.3 胎儿羊水静脉注射造型法	142
10.1.4 凝血酶和6-氨基己酸造型法	142
10.1.5 放射损伤型血瘀模型造型法	143
10.1.6 肠粘连型血瘀证造型法	143
10.2 局部血流动力学障碍的血瘀模型	144
10.2.1 实验性心肌缺血动物模型造型法	144
10.2.2 肾上腺素与去甲肾上腺素局部滴注造型法	144
10.2.3 血栓性血瘀证模型	145
动脉血栓形成造型法	145
静脉血栓形成造型法	145
10.3 根据中医的病因病机理论建立的血瘀证动物模型	145
10.3.1 肝气郁结和寒凝型血瘀证模型	145
10.3.2 气虚型血瘀证模型	146
10.3.3 “离经之血”型血瘀证模型	146
11 扶正固本实验方法之一——一般状况和抗应激能力实验	148
11.1 观察机体一般状况的实验方法	148
体重增长	148
小鼠游泳试验	149

食欲试验	149
饮水量测定	149
11.2 抗应激实验方法	150
11.2.1. 缺氧法	150
常压缺氧实验	150
减压缺氧实验	151
脑循环障碍性缺氧实验	152
化学性缺氧实验	152
11.2.2 低温法	153
11.2.3 高温法	153
11.2.4 放射损伤法	153
12 扶正固本实验方法之二——免疫功能试验	155
12.1 影响非特异性免疫功能的实验方法	155
12.1.1 免疫器官重量法	155
12.1.2 单核吞噬细胞功能测定法	157
小鼠碳廓清法	157
腹腔巨噬细胞功能测定法	158
12.2 影响体液免疫功能的实验方法(特异性免疫功能实验法之一)	159
溶血素测定法	159
鸡红细胞作免疫原的溶血素测定法	160
单向免疫扩散法	160
12.3 影响细胞免疫功能的实验方法(特异性免疫功能实验法之二)	161
12.3.1 小鼠外周血液中T淋巴细胞酶标记染色法	161
12.3.2 淋巴细胞转化试验	163
小鼠脾细胞 ³ H-TdR 掺入法	163
大鼠全血T淋巴细胞 ³ H-TdR 掺入法	163
PHA刺激淋巴细胞转化试验——小鼠体内诱导法	164
12.3.3 淋巴细胞的细胞毒试验——天然杀伤(NK)细胞活性的检测	165
¹²⁵ IUdR掺入法	165
⁵¹ Cr释放法	166
形态学方法	167
13 扶正固本实验方法之三——益智实验	170
13.1 概论	170
13.1.1 学习、记忆的生理生化基础	170
13.1.2 记忆障碍模型的制备	171
13.2 常用筛选方法	172
13.2.1 跳台法	172
13.2.2 避暗法	173
13.2.3 水迷路法	174
13.2.4 电迷路法	175

13.2.5 复杂迷宫趋食法	176
13.3 中枢递质和受体测定方法	177
13.3.1 乙酰胆碱含量测定方法	177
放射免疫测定法	177
生物测定法	179
13.3.2 单胺类神经递质测定方法	182
化学荧光测定法	182
受体的放射配基结合分析法	185
〔附13-1〕 各种配基-受体的结合条件	192
〔附13-2〕 放射配基的配制方法	193
14 扶正固本实验方法之四——寿命试验	194
14.1 果蝇寿命试验法	194
14.2 小鼠寿命试验法	195
14.3 家蚕寿命试验法	197
14.4 人二倍体培养细胞寿命试验法	198
15 扶正固本实验方法之五——物质代谢实验	201
15.1 人体衰老的自由基学说	201
15.1.1 自由基的概念	201
15.1.2 自由基的生成和清除	201
15.1.3 自由基的损害和过氧化脂质的形成	202
15.2 过氧化脂质的测定方法	202
荧光法	202
MDA-TBA比色法	203
15.3 超氧化物歧化酶(SOD)测定方法	205
甲臍比色法	205
光还原NBT法	206
15.4 谷胱甘肽过氧化物酶测定方法	208
15.5 单胺氧化酶(MAO)活性测定方法	210
分光光度法	210
放射性同位素法	211
15.6 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性测定方法	212
15.7 结缔组织中胶原蛋白含量及热收缩测定法	215
小鼠皮肤胶原蛋白测定方法	215
人血或尿中羟脯氨酸的测定法	217
茚三酮法	218
15.8 小鼠尾腱和尾皮热收缩测定法	219
15.9 核酸与蛋白质合成代谢的放射性同位素前体物质掺入测定方法	219
体内给药体内掺入法	220
体外给药体外掺入法	221
体内给药体外掺入法	222
15.10 器官的蛋白质含量测定(Lowry法、Folin-酚试剂)	222

16 扶正固本实验方法之六——内分泌功能实验	224
16.1 性激素样功能实验方法	224
子宫重量法	224
精液囊、前列腺重量法	225
阴道上皮角化试验	226
雏鸡鸡冠法	227
16.2 性激素生成实验方法	228
血浆雌二醇测定法	228
血浆睾酮测定法	229
睾丸 cAMP 含量测定法	231
16.3 肾上腺皮质激素样功能实验方法	231
大鼠胸腺退化实验	231
小鼠嗜酸性粒细胞抑制试验	232
滞钠实验	232
16.4 肾上腺皮质激素生成实验方法	233
肾上腺抗坏血酸含量测定法 (2,4-二硝基苯肼比色法)	233
肾上腺 cAMP 含量测定法	234
放射免疫(双抗体法)测定血浆皮质醇	234
酶标免疫(液相竞争结合法)测定血浆皮质醇	235
尿液 17-羟皮质类固醇测定法	236
17 扶正固本实验方法之七——消化、吸收功能试验	239
17.1 消化液收集方法	239
17.1.1 胃液收集法	239
插管法	239
造瘘法	239
17.1.2 肠液收集法	240
17.1.3 胰液收集法	240
17.1.4 胆汁收集法	240
17.2 消化功能测定方法	241
17.2.1 胃酸测定法	241
滴定法	241
酸度计测定法	241
17.2.2 蛋白酶测定法	242
胃蛋白酶的测定法	242
胰蛋白酶测定法	244
分光光度法测定糜蛋白酶	244
合成多肽法测定糜蛋白酶	245
17.2.3 淀粉酶测定法	245
比色法测定淀粉酶	245
17.3 小肠吸收功能试验	246

17.3.1 定量进食体重增长测定法	246
17.3.2 脂肪平衡试验	247
17.3.3 右旋木糖吸收试验	248
人体尿内木糖含量测定法	248
大鼠血清内木糖含量测定法	248
17.3.4 ^3H -葡萄糖吸收试验	249
✓ 18 扶正固本实验方法之八——造血功能试验	250
18.1 血常规检查法	250
红、白细胞检查法	250
血红蛋白测定法	251
网织红细胞染色法	252
18.2 血细胞再生功能试验法	253
骨髓有核细胞计数法	253
脾脏重量法	253
^3H -胸腺嘧啶核苷掺入试验法	253
18.3 药物对骨髓造血干细胞作用实验法	254
18.3.1 脾集落(CFU-S)测定法	254
移植法——外源性脾集落测定法	255
非移植法——内源性脾集落测定法	256
18.3.2 造血干细胞自杀试验	256
^3H -胸腺嘧啶核苷测试法	257
阿糖胞苷测试法	257
18.3.3 造血细胞体内扩散盒培养法	258
19 扶正固本实验方法之九——滋阴、助阳中药对β-cAMP系统和M-cGMP系统影响的实验	260
19.1 环核苷酸的放射免疫分析法(RIA)	260
19.1.1 用 ^3H -cAMP的cAMP RIA操作法	261
19.1.2 用 ^3H -SeGMP的cGMP RIA操作法	263
19.2 β -cAMP系统和M-cGMP系统反应性的实验方法	264
19.3 β 受体和M受体的放射配基结合分析实验方法	266
20 扶正固本实验方法之十——虚证病理模型建立方法	272
20.1 阴虚证模型	272
20.1.1 甲亢型阴虚模型建立法	272
甲状腺素加利血平造型法	272
甲状腺素单味造型法	272
三碘甲状腺氨酸造型法	273
20.1.2 糖皮质激素型阴虚模型建立法	275
氢可型阴虚造型法	275
20.2 阳虚证模型	275

20.2.1 肾上腺皮质激素型阳虚模型建立法	275
20.2.2 羟基脲型阳虚模型建立法	276
20.2.3 甲减型阳虚模型建立法	276
切除甲状腺造型法	276
他巴唑造型法	277
20.3 肾虚证模型	278
房劳型肾虚造型法	278
20.4 脾虚证模型	279
大黄型脾虚造型法	279
利血平型脾虚造型法	280
饮食失节型脾虚造型法	281
四氯化碳肝郁型脾虚造型法	281
20.5 血虚证模型	282
失血性血虚造型法	282
溶血性血虚造型法	283
20.6 虚寒证和虚热证模型	283
21 清热解毒实验方法之一——抗菌、抗病毒试验	286
21.1 抗菌实验方法	286
21.1.1 体外实验法	286
平皿挖沟灌药法和纸条法	286
平皿挖洞灌药法(打孔法、挖洞法)、纸片法和杯管法	288
试管内药液稀释法(二倍稀释法)	289
平皿内药液稀释法	291
21.1.2 体内试验法(动物体内试验治疗法)	292
21.2 抗病毒实验方法	294
21.2.1 鸡胚法	294
21.2.2 整体动物法	295
21.2.3 组织培养法	295
21.2.4 反向被动血凝抑制试验法	296
22 清热解毒实验方法之二——抗炎和免疫抑制试验	298
22.1 引起肿胀的炎症模型	298
大鼠足跖浮肿法	298
小鼠耳肿胀法	300
大鼠皮肤浮肿法	300
22.2 毛细血管通透性增加模型	302
大鼠皮内色素渗出法	302
22.3 肉芽肿模型	303
塑料环法	303
大鼠巴豆油气囊法	303
大鼠棉球植入法	304

22.3 琼脂皮下注射法	304
22.4 免疫性炎症模型	305
大鼠佐剂性关节炎法	305
22.5 白细胞游走实验	305
羧甲基纤维素囊袋法	305
22.6 抗炎与肾上腺皮质系统关系的实验	306
切除双侧肾上腺的抗炎实验法	306
22.7 主要炎症介质影响的实验	307
炎症组织渗出液内炎症介质含量测定法	307
22.8 抗排异实验	307
小鼠耳后心脏/心肌组织移植反应法	307
22.9 抗过敏实验	309
过敏性脑脊髓炎法	309
23 清热解毒实验方法之三——热毒证病理模型建立方法	311
23.1 发热病理模型(解热试验)	311
23.1.1 动物的选择和致热原	311
23.1.2 人工发热模型造型方法	311
家兔法	311
大鼠法	312
23.2 内毒素中毒病理模型	313
23.2.1 鲎试验法	313
凹板法	313
试管法	314
体内法	315
23.2.2 实验治疗法	315
23.3 热毒性疾病病理模型	317
23.3.1 阳证疮疡病理模型造型法	317
23.3.2 急腹症型热证病理模型造型法	318
23.4 温热药热证病理模型	319
24 下、汗、吐诸治法的实验方法	320
24.1 攻里通下实验方法	320
24.1.1 肠内容物推进速度试验	320
炭末推进试验法	320
炭末排出时间测定法	321
酚红定量测定法	321
24.1.2 胃肠运动强度试验	322
在体兔肠平滑肌实验法	322
在体胃瘘和肠瘘实验法	322
24.1.3 排便频度实验	322
粪便色点测定法	322