

普通高等教育“十一五”国家级规划教材
全国高等中医药院校教材

(第二版)

药理与中药药理实验

(供中医药类、中西医结合等专业用)

主 编 张大方 金若敏
副主编 孟宪丽 吴清和
主 审 李仪奎

上海科学技术出版社

普通高等教育“十一五”国家级规划教材
全国高等中医药院校教材

药理与中药药理实验

(第二版)

(供中医药类、中西医结合等专业用)

主 编	张大方 金若敏
副主编	孟宪丽 吴清和
主 审	李仪奎

上海科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

药理与中药药理实验/张大方,金若敏主编. —2版.
上海:上海科学技术出版社,2006.9

普通高等教育“十一五”国家级规划教材

ISBN 7-5323-8536-1

I. 药... II. ①张...②金... III. 中药学:实验医学:药理学—中医学院—教材 IV. R285.5

中国版本图书馆CIP数据核字(2006)第067155号

上海世纪出版股份有限公司 出版、发行
上海科学技术出版社

(上海钦州南路71号 邮政编码 200235)

新华书店上海发行所经销

苏州望电印刷有限公司印刷

开本 787×1092 1/16 印张 9.5

字数:210千字

2002年9月第1版第1次印刷

2006年9月第2版第3次印刷

定价:15.00元

如发生质量问题,读者可向工厂调换

普通高等教育“十一五”国家级规划教材
全国高等中医药院校教材

《药理与中药药理实验》(第二版)编委会名单

主 编

张大方(长春中医药大学)

金若敏(上海中医药大学)

副主编

孟宪丽(成都中医药大学)

吴清和(广州中医药大学)

主 审

李仪奎(上海中医药大学)

编 委

(以姓氏笔画为序)

马越鸣(上海中医药大学)

王树荣(山东中医药大学)

任 远(甘肃中医学院)

李廷利(黑龙江中医药大学)

李丽静(长春中医药大学)

吴符火(福建中医学院)

林 青(云南中医学院)

彭代银(安徽中医学院)

曾 南(成都中医药大学)


谢金鲜(广西中医学院)

廖雪珍(广州中医药大学)

普通高等教育“十一五”国家级规划教材
全国高等中医药院校教材

《药理与中药药理实验》(第二版) 编写人员

(以姓氏笔画为序)



马越鸣	王秀华	王树荣	宁 炼	任 远
李廷利	李丽静	吴清和	吴符火	汪 宁
张大方	张晓晨	林 青	金若敏	孟宪丽
赵跃刚	郭冷秋	黄 萍	章小兵	彭代银
曾 南	曾 勇	谢金鲜	廖雪珍	

再版说明

本教材由全国 11 所高等中医药院校 24 名长期工作在教学与科研第一线的专家、教授共同编写的实验教材,在第一版的基础上修订而成。本书第一版自 2002 年出版后,经十余所院校教学实践检验,反映良好,同时也发现了一些不足之处,因而及时进行修订。本教材经教育部审定,被正式列入为“十一五”国家级规划教材。

本教材的编写强调科学性、实用性、创新性。全书分为三篇。上篇主要介绍药理学实验的基本知识与基本技能,并分别介绍了各个系统的基本实验方法。实验中选用的受试物为西药或中药,既可用于基础的药理实验,又可用于中药药理实验,这是原版教材的特点,已为各中医药院校教学实践证明是非常行之有效的。中篇为中药药理综合性实验,通过中篇的学习和实验操作,以启发学生从多系统、多角度用现代药理学方法来阐明中药的功效,可培养学生的综合思考问题和分析能力;同时结合了中药新药研发的内容,将理论与应用相结合,这是本书的创新之处。下篇为中药药理设计性实验,这也是本书的创新之处,是其他同类教材中所没有的,该篇从介绍实验设计到最后报告的书写,并以一个单味中药及一个中药复方研究为例证。各学校可根据仪器设备条件,启发学生自主设计,培养学生的创新能力。

本教材编写的实验,各校可根据不同的教学要求和实验条件选用,可供中药、中医、中西医结合专业的专科、本科、研究生药理实验课和中药药理实验课选用,也可供研究生中药药理实验方法学课程选用。学生通过学习能掌握实验的基本技能与基本技术,培养分析问题与解决问题的能力,培养创新能力。

本书在编写过程中,得到了上海中医药大学、长春中医药大学、成都中医药大学、广州中医药大学及参编单位的大力支持和帮助,谨表示衷心的感谢。

教学的改革是一项长期的任务,尤其是实验教学,更需要在实践中不断地探索。对本书编写中可能存在的缺点与不足,衷心希望广大读者批评与指正,以便不断修正,进一步提高教材的质量。

《药理与中药药理实验》编委会

2006 年 5 月

目 录

上篇 药理基础实验方法

第一章	药理实验基本技术概论	3
第一节	常用实验动物简介	3
一、	常用实验动物简介	3
二、	实验动物分类	5
第二节	实验动物的捉持、固定和标记方法	6
第三节	实验动物的给药方法	7
第四节	实验动物给药剂量的计算	11
第五节	实验动物的采血方法	12
第六节	实验动物的处死方法	14
第二章	总论实验	15
第一节	药物的局部作用与吸收作用	15
第二节	药物半衰期的测定	16
第三节	影响药物作用的因素	20
一、	药物的量效关系	21
二、	给药途径	23
三、	溶液 pH	23
四、	炮制方法	24
五、	药物的相互作用	25
六、	肝功能状态	26
七、	肾功能状态	27
第三章	急性毒性试验	29
第一节	半数致死量 (LD ₅₀) 的测定	29
第二节	最大给药量的测定	32
第四章	作用于神经系统药理实验	34
第一节	药物对小鼠自主活动的影响	34

	第二节	药物对小鼠睡眠时间的影响	35
	第三节	药物的抗惊厥作用	36
	第四节	药物的镇痛作用	37
	第五节	传出神经药物对麻醉犬血压的影响	39
	第六节	药物对豚鼠离体肠平滑肌的作用	40
第五章		作用于心血管系统药理实验	43
	第一节	药物对离体蛙心的作用	43
	第二节	药物抗心律失常作用	45
	第三节	药物抗心肌缺血作用(冠状动脉结扎法)	46
	第四节	药物对豚鼠离体心脏冠脉流量的影响	47
	第五节	药物对家兔离体主动脉条的作用	48
第六章		作用于呼吸系统药理实验	50
	第一节	药物镇咳作用实验	51
	第二节	药物祛痰作用实验	52
	第三节	药物平喘作用实验	54
第七章		作用于消化系统药理实验	57
	第一节	药物对动物胃肠运动的影响	58
	第二节	药物的抗胃溃疡作用	60
	第三节	药物对大鼠胆汁流量的影响	63
第八章		作用于泌尿和生殖系统药理实验	65
	第一节	药物对家兔尿量的影响	66
	第二节	药物对家兔在体子宫平滑肌的作用	66
	第三节	药物对去势大鼠附性器官重量的影响	68
第九章		作用于血液系统药理实验	69
	第一节	药物对小鼠出血时间的影响	70
	第二节	药物对小鼠凝血时间的影响	71
第十章		抗炎作用药理实验	72
	第一节	药物抗二甲苯致小鼠耳肿胀作用	72
	第二节	药物抗大鼠足跖肿胀作用	73
	第三节	药物对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响	74
	第四节	药物对小鼠肉芽肿的影响	75
第十一章		抗应激作用药理实验	76
	第一节	药物对小鼠耐缺氧能力的影响	76

第二节	药物对小鼠游泳时间的影响	77
第三节	药物对小鼠耐寒能力的影响	78
第四节	药物对小鼠耐高温能力的影响	78

中篇 中药药理综合性实验

第十二章 解表、清热功效的中药药理实验

第一节	药物对大鼠足跖汗液分泌的作用	84
第二节	药物对干酵母所致大鼠发热的解热作用	85
第三节	药物的体内抗菌作用	86
第四节	药物抗内毒素的作用	87

第十三章 活血化瘀功效的中药药理实验

第一节	药物对结扎冠状动脉犬血流动力学的影响	90
第二节	药物对家兔肠系膜微循环的影响	92
第三节	药物对气滞血瘀证大鼠血液流变学的影响	93
第四节	药物抗大鼠血栓形成作用	94
第五节	药物抗血小板聚集功能的作用	95
第六节	药物对小鼠急性脑栓塞性死亡及偏瘫的影响	97
第七节	药物抗肿瘤作用	97

第十四章 补益功效的中药药理实验

第一节	药物对小鼠免疫器官重量的影响	99
第二节	药物对巨噬细胞吞噬功能的影响 (炭粒廓清法)	100
第三节	药物对血清溶血素水平的影响	101
第四节	药物对二硝基氯苯 (DNCB) 致小鼠迟发型 皮肤过敏反应的影响	103
第五节	药物对小鼠记忆获得障碍的影响	104
第六节	药物降血糖及调脂作用	105
第七节	药物对小鼠超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧 化脂质 (LPO) 活性的影响	107

下篇 中药药理设计性实验

第十五章 实验设计概述

第一节	实验设计的基本原则及内容	111
第二节	实验研究的基本程序	112

	第三节 实验动物给药剂量的设计	113
	第四节 常用统计方法的应用 (附: 常用统计软件介绍)	115
第十六章	设计性实验	119
	第一节 实验指导	119
	第二节 大黄泻下功效的药理实验设计(例证)	120
	第三节 当归补血汤补血功效的药理实验设计	122
	第四节 实验研究报告的书写格式	123
附录	125
	附录一 常用营养液的配制	125
	附录二 非挥发性麻醉药对动物的常用剂量	126
	附录三 常用动物生理常数	127
	附录四 t 值表与 χ^2 值表	128
	附录五 药理学实验常用仪器及使用	129

上篇

药理基础实验方法

第一章

药理实验基本技术概论

中药药理实验研究属于生命科学研究范畴,进行实验研究所需具备的基本条件,可以总括为实验动物(animal)、设备(equipment)、信息(information)和试剂(reagent)四个基本要素,简称为 AEIR 要素,实验动物是居于首位。研究成果水平的高低,首先取决于实验动物的质量。没有合格实验动物而进行的药理实验,就不能在研究者之间进行比较,亦得不到国际的公认。中药药理工作者,不但要求了解和掌握一般实验动物的知识,还要很好地应用近交系动物、突变系动物或无菌动物、悉生动物、无特定病原体动物等现代实验动物,只有采用高质量的实验动物,才有可能获得准确、可靠、重复性好的实验结果,使研究质量和速度显著提高。我国也要求科学研究要逐渐采用国际上公认的标准实验动物,进行实验研究。

第一节 常用实验动物简介

一、常用实验动物简介

在药理实验中,常根据实验目的和要求选用不同的动物。常用的实验动物有蛙、小鼠、大鼠、豚鼠、家兔、猫和犬等。在选择实验动物时,应注意实验对动物的种属和系别方面的要求,因为动物种属和系别的差异往往会造成对药物反应性的不同。应使所选的动物能较好地反映试验药物的选择性作用,并符合节约的原则。例如测定 LD_{50} 及 ED_{50} 需较多动物,常选用小鼠,因为小鼠种属清楚,繁殖快,较经济。又如抗过敏实验常选用豚鼠,是由于豚鼠对组胺等过敏性介质敏感。

(一) 常用实验动物的特点

1. 蛙和蟾蜍

由于其心脏在离体条件下能较持久而有节律地搏动,故常用来研究药物对心脏的作用。其坐骨神经腓肠肌标本可用来观察药物对周围神经横纹肌或神经肌接头的作用。

2. 小鼠

小鼠是药理实验最常用的一种动物,适用于动物数量需求较大的实验,如 LD_{50} 、 ED_{50} 的测定,抗炎免疫药、抗肿瘤药、避孕药、中枢神经系统药物以及延缓衰老药等的研究和药物初筛。

常用体重为 18~22 g。

3. 大鼠

其用途与小鼠相似。大鼠的解剖结构更接近人类,可以复制多种人类疾病模型,对使人类致病的微生物非常敏感,对许多药物的反应常与人类一致,而且,其体积较小鼠大,更易操作,有些在小鼠身上不便进行的实验可选用大鼠。在医学实验中应用极广,如药物的抗炎实验常选用大鼠的踝关节做炎症模型;可用大鼠进行血压测定、胆管插管和长期毒性试验,还可用其离体子宫做子宫收缩药的检定。此外,尚可用于糖尿病药物的研究以及流感病毒传代及细菌学实验等。常用品种有 Wistar 大鼠、Sprague-Dawley 大鼠(SD 大鼠)。常用体重为 150~300 g。

4. 豚鼠

豚鼠对组胺特别敏感,易被抗原性物质所致敏,常用于平喘药和抗组胺药的实验研究。对结核杆菌比较敏感,故也可用于抗结核药的实验研究。此外还可用于离体心脏、平滑肌实验。常用体重为 300~500 g。

5. 家兔

家兔较驯服,易饲养。其品种很多,常用于实验的有 4 种:① 青紫蓝兔,体质较壮、适应性强、易于饲养、生长较快;② 中国本地兔(白家兔),其特点似青紫蓝兔,但抵抗力较差;③ 新西兰白兔,是近年来引进的优良品种;④ 大耳白兔,耳朵长大、血管清晰、皮肤白色,但抵抗力较差。家兔是常用的实验动物,可复制多种疾病模型,常用于观察药物对呼吸、心脏、血管(离体兔耳血管灌注)、肠肌运动的影响、体温实验及热源检查。用于避孕药实验(雌兔)或观察药物对皮肤局部作用(刺激性)。常用体重为 1.5~2.5 kg。

6. 猫

猫对去脑实验和对其他外科手术耐受力强,反射功能强,血压较稳定。常用于观察药物对心血管系统的影响。可用于中枢神经系统实验,如去大脑僵直,姿势反射实验等;猫也常用于镇吐药的实验。

7. 犬

实验需用大动物时,常用犬。其嗅觉、视觉、听觉均很灵敏,而且神经系统、血液系统、消化系统、心血管系统都很发达,与人类相似,是目前应用最多的大动物。犬是记录血压、呼吸最常用的动物。常用于观察药物对冠状动脉血流量、血流动力学和心肌电生理的影响,以及降压药、抗休克药的研究等。犬还可通过训练,用于慢性实验研究,如条件反射、高血压的实验治疗以及实施胃痿、肠痿手术后观察药物对胃肠蠕动和分泌的影响的实验。此外,犬也用于长期毒性试验。常用品种有杂种犬、比格犬等。常用体重为 5~15 kg。

(二) 实验动物的选择

实验动物的选择直接关系到实验的成败。由于动物特点不同、用途各异,因此必须根据实验内容选择合适的实验动物,方能达到实验目的。

1. 实验动物的选择原则

(1) 选择与人体结构、功能、代谢及疾病特征相似的动物:从进化角度看,实验动物进化等级越高,则其结构、功能、代谢越复杂,反应就越接近人类。如:猕猴非常适合人类的许多疾病研究,其生殖系统与人非常接近,雌性猕猴月经周期也为 28 日,故为研究避孕药的理想动物,也是制造和鉴定脊髓灰质炎疫苗的唯一实验动物,故在选择实验动物时要充分考虑动物与人的种属差异。

(2) 选择解剖、生理特点符合实验要求的动物：所有的实验动物都有各自的解剖生理特点，如果能适当利用，便可以得心应手，事半功倍。如：家兔的胸腔结构与其他动物不同，胸腔中央有一层很薄的纵隔将胸腔分为左右两部分，互不相通，两肺被肋胸膜隔开，心脏又有心包胸膜隔开，当开胸和打开心包膜、暴露心脏进行实验操作时，只要不弄破纵隔，动物就不需要做人工呼吸，故适于做开胸和心脏实验；一般动物均有胆囊，而大鼠却没有，故不能用大鼠来做胆囊功能研究。

(3) 选择对实验指标具有明显反应的动物：不同种属的动物对于同一种致病刺激和病因的反应存在明显差异，如：家兔对体温变化十分敏感，适用于发热、解热剂和致热原的研究，而大鼠和小鼠体温调节不稳定，不宜用于发热实验；豚鼠易致敏，适宜做过敏性实验研究；犬、大鼠、猫常用于高血压研究；而肿瘤研究则大量采用大鼠及小鼠等。

(4) 在保证实验质量的前提下，选择最易获得、最经济、最易饲养的动物。

2. 选择实验动物的注意事项

实验动物对外界刺激的反应存在着个体差异，为了使实验更科学、更严谨，把实验误差减至最小，应注意如下事项。

(1) 年龄、体重：动物的年龄可以按体重来估计，大体上，成年动物：小鼠为 20~30 g，大鼠为 180~280 g，豚鼠为 450~700 g，兔为 2.0~3.0 kg，猫为 1.5~2.5 kg，犬为 9~15 kg。应该根据实验目的选择适龄动物，一般来说，年幼动物比成年动物敏感，急性实验多选用成年动物，慢性实验以年轻一些的动物为宜。在选择实验动物年龄时，应注意实验动物与人之间的年龄关系，以便进行分析和比较。如：犬年龄与人年龄对应关系为：1 年龄犬——15 岁人，10 年龄犬——56 岁人，15 年龄犬——76 岁人。为了减少实验误差，同一实验的动物应年龄一致，体重相近，相差小于 10%。

(2) 性别：实验证明，不同性别的动物对同一致病刺激的反应不同。例如：大鼠皮下注射 30% 乙醇 0.1~0.2 ml 后，雄鼠死亡率为 84%，雌鼠死亡率仅为 30%；而过量注射等量的戊巴比妥钠时，雌鼠的死亡率为雄鼠的 2.5~3.8 倍。因此，实验若对动物性别无特殊要求，则各组选用雌雄各半为宜。

(3) 健康状况：除非特殊需要，一般选健康动物。实验证明，动物处于衰弱、饥饿、寒冷、疾病等情况下，实验结果很不稳定，故健康状况不佳者，不能用做实验。妊娠期、哺乳期等特殊生理状态，机体的反应性有很大变化，对实验结果影响甚大，不宜选用。

二、实验动物分类

根据国家标准(GB 14922.1—2001 和 GB 14922.2—2001)，我国的实验动物按照体内外微生物学和寄生虫学控制情况，可分为以下四个等级。

1. 普通级动物(conventional animal, CV)

是指不携带所规定的人兽共患病病原和动物烈性传染病病原的实验动物。

普通级动物饲养在开放系统中。

2. 清洁动物(clean animal, CL)

除普通动物应排除的病原外，不携带对动物危害大和对科学研究干扰大的病原，在微生物和寄生虫控制级别上略低于 SPF 级。

清洁动物饲养在屏障系统中。

3. 无特定病原体动物(specific pathogen free animal, SPF)

除清洁级动物应排除的病原外,不携带主要潜在感染或条件致病和对科学实验干扰大的病原。

SPF 动物饲养在屏障系统中。

4. 无菌动物(germ free animal, GF)

是指用现有的检测方法未发现在体表体内携带其他种生命体(包括一切微生物和寄生虫)的实验动物。

无菌动物饲养在无菌隔离器内。

第二节 实验动物的捉持、固定和标记方法

1. 实验动物的标记

实验用较大动物如兔、猫、犬等可用特制的号码牌固定于耳上。白色家兔和小鼠、大鼠可用黄色苦味酸(3%~5%)涂于毛上标号。其编号方法无统一规定,以下方法可供参考。

如给小鼠标记1~10号,可将小鼠背部分前肢、腰部、后肢,按左、中、右分为九个区,从右到左标记1~9号,第十号不标记(图1-1a)。

也可按图1-1b给小鼠标记1~10号:

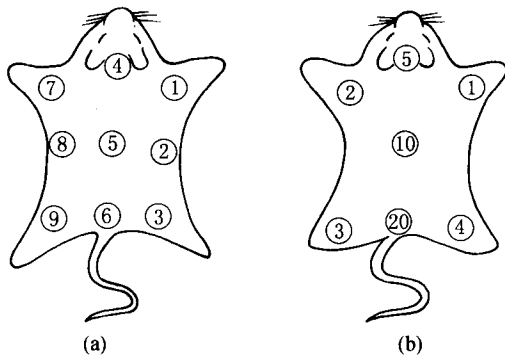


图 1-1 小鼠、大鼠皮毛标记编号法

(a) 10只以下标示法 (b) 20只以下标示法

1号——右前肢

2号——左前肢

3号——左后肢

4号——右后肢

5号——头部

6号——头部及右前肢

7号——头部及左前肢

8号——头部及左后肢

9号——头部及右后肢

10号——腰部(背中间)

2. 实验动物的捉持固定方法

(1) 蛙和蟾蜍:左手握持,用(左)食指和中指夹住左前肢,由(左)拇指压住右前肢,将下肢拉直,用环指及小指夹住固定。需长时间固定,可在捣毁其脑脊髓后,用大头针钉住四肢和舌,固定于木制蛙板上。

(2) 小鼠:捉持方法有两种。一种是用右手提起鼠尾,放在粗糙物(鼠笼盖)上面,向后轻拉其尾,左手拇指、食指捏住其颈背部皮肤,将小鼠固定在掌中,使其腹部朝上,然后以环指和小指夹住鼠尾。另一种抓法是只用左手,先用食指和拇指抓住尾部,用手掌尺侧及小指夹住尾根,再用拇指及食指捏住其颈部皮肤。后一方法稍难,但便于快速捉拿给药。

(3) 大鼠：捉持和固定方法基本同小鼠。将其放于鼠笼盖上，右手轻拉其尾，左手中指和拇指放到大鼠双前肢腋下，示指放入颈部，使其伸开前肢迅速将其握住。

(4) 豚鼠：一手拇指和中指从豚鼠背部伸到腋下，另一只手托住其臀部即可。体重小者可用一只手捉拿。

(5) 家兔：一手抓住颈背部皮肤，轻轻将兔提起，另一手托住其臀部，或将其置于固定箱内。

(6) 猫：捉持方法同家兔，但应注意其利爪和牙齿会损伤人。为保安全多用套网捉拿，用固定袋固定。

(7) 犬：对驯服犬，可用特制嘴套将犬嘴套住，并将嘴套上的绳带拉至耳后颈部打结固定。对凶暴的犬，用长柄钳式捕犬夹钳住其颈部，再用嘴套将犬嘴套住。如无嘴套，可用绳带绑嘴，方法是在犬嘴的上下部打结并绕到颈后再打结固定。

急性实验时，通常将犬麻醉后仰位固定于手术台上。四肢拴上绳带，拉紧固定在手术台边缘的楔子上。取下嘴套或绳带，将一金属棒经两嘴角穿进口腔压于舌上，并将舌拉出口腔，再用绳带绕过金属棒绑嘴并固定于手术台的柱子上。

第三节 实验动物的给药方法

1. 蛙和蟾蜍

淋巴囊注射：蛙和蟾蜍皮下有数个淋巴囊，注入药物很易吸收。可将药物注入胸、腹或股淋巴囊。一般多选腹部淋巴囊注射给药。方法是将注射针头从大腿上端刺入，经大腿肌层入腹壁肌层，然后浅出进入腹部皮下即可注入药液。如做胸部淋巴囊注射，可将针头刺入口腔，穿过下颌肌层而入胸部皮下淋巴囊。（图 1-2、图 1-3）每只一次注入量为 0.25~1.0 ml。

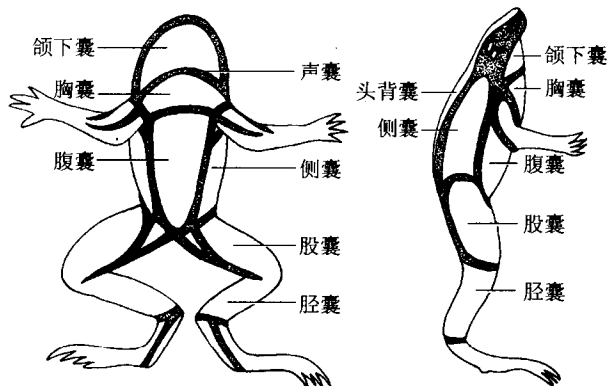


图 1-2 蛙的皮下淋巴囊

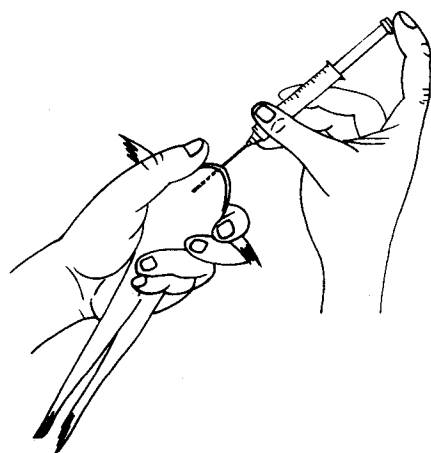


图 1-3 蛙的捉持与胸淋巴囊的注射法