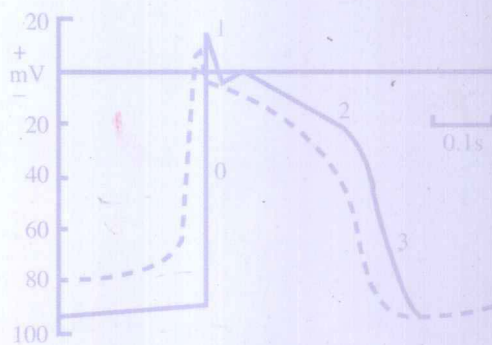


药理学实验室用书

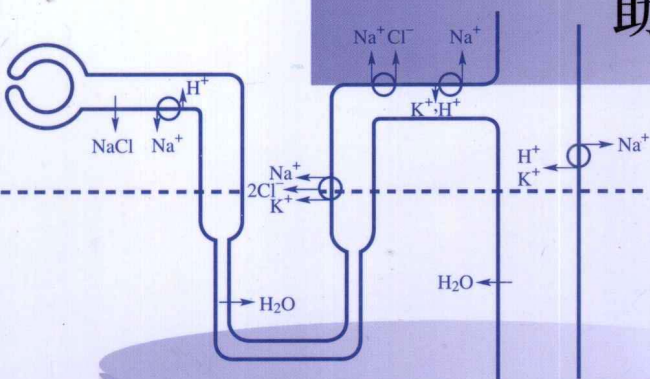


药理学 实验方法

主审 李波 主编 高华

基础理论+实际操作

助你全面掌握药理学实验方法



中国医药科技出版社

药 学 实 验 室

YAOLIXUE
SHIYANFANGFA

药 理 学 实 验 方 法

主 审 李 波
主 编 高 华

中国医药科技出版社

内 容 提 要

本书是一部将药理学实验方法与药检药理及临床前研究联系在一起的专业参考书,在保证科学性基础上,重点强调实用性。本书重点介绍了药理学实验中的基本方法和通用技术,内容包括药理学实验的多个方面。既包括传统经典方法,也介绍了最近发展起来的新技术和新方法。

全书共分六章,分别介绍药理学实验基础知识,常用实验动物与基本操作,主要药效学实验方法,药品安全性检查方法,分子药理学实验和影响药物作用的因素。内容全面、实用。

本书是一本全面实用的参考书,主要面向新药研究人员、药品检验行业的药理专业检测人员、药理学相关专业研究生,为他们的药理学实验研究工作提供帮助。

图书在版编目(CIP)数据

药理学实验方法/高华主编. —北京:中国医药科技出版社,
2012. 1

药学实验室用书

ISBN 978 - 7 - 5067 - 4411 - 9

I. ①药… II. ①高… III. ①药理学 - 实验方法
IV. ①R965. 2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 162693 号

美术编辑 陈君杞

版式设计 郭小平

出版 中国医药科技出版社

地址 北京市海淀区文慧园北路甲 22 号

邮编 100082

电话 发行: 010 - 62227427 邮购: 010 - 62236938

网址 [www. cmstp. com](http://www.cmstp.com)

规格 787 × 1092mm¹/₁₆

印张 29 ³/₄

字数 506 千字

版次 2012 年 1 月第 1 版

印次 2012 年 1 月第 1 次印刷

印刷 北京高岭印刷有限公司

经销 全国各地新华书店

书号 ISBN 978 - 7 - 5067 - 4411 - 9

定价 68.00 元

本社图书如存在印装质量问题请与本社联系调换

编 委 会

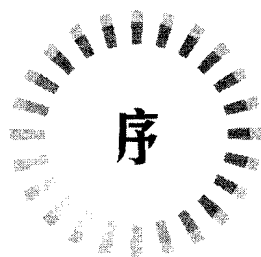
主 审 李 波

主 编 高 华

副主编 魏敏杰 蔡 彤

编 委 (以姓氏笔画为序)

王秀英	艾文超	任 婕	刘 倩
刘群丽	朴晋华	张志伟	张国来
张 媛	张 横	杜 颖	周素文
国 明	贺 庆	唐宏涛	钱德明
焉媛媛	嵇 扬	裴宇盛	谭德讲
樊 华			



药理学是研究药物与机体相互作用及其规律和作用机制的一门学科，是生命科学的重要组成部分。药理学的方法是实验性的，即在严格控制的条件下观察药物对机体或其组成部分的作用规律并分析其客观作用原理。药理学实验为阐明药物作用机制、改善药物质量、提高药物疗效、开发新药、发现药物新用途并为探索细胞生理生化及病理过程提供实验资料，是新药研发、药品检验工作中重要的实验技术。

中国食品药品检定研究院会同中国医科大学和部分省市药品检验所的专家学者联合编写本书。他们都是活跃在药理学科科研、教学及药品检测第一线、具有一定工作积累及教学经验的中青年学者，具备丰富的理论知识和实验技能。本书内容包括药理学实验中的基本方法和通用技术，既包括经典方法，也介绍了最近发展起来的新技术和新方法，分别为药理学实验基础知识，常用实验动物与基本操作，主要药效学实验方法，药品安全性检查方法，分子药理学实验方法。信息量大，具有科学性、实用性。

本书为广大年轻的药学科科研、检验人员介绍药理学实验理论知识和实践技能，希望本书能给广大药学工作者做好药理学研究工作提供参考和帮助。

丁丽霞
2011年5月



前言

药理学是一门以实验为基础的科学，药理学实验是从事药理学研究的基本技术要求。药理学实验是药物研究的重要的不可缺少的组成部分。药理学实验方法涉及面广，技术方法繁多。

本书是一部将药理学实验方法与药检药理及临床前研究联系在一起的专业书，在保证科学性基础上，重点强调实用性。本书重点介绍了药理学实验中的基本方法和通用技术，内容包括药理学实验的多个方面。既包括传统经典方法，也介绍了最近发展起来的新技术和新方法。

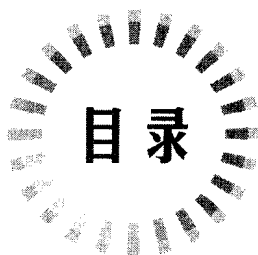
全书共分六章，第一、二章药理学实验基础知识，常用实验动物与基本操作，主要讲述基本理论、基本知识及基本技能。第三章主要药效学实验方法，主要讲述了抗肿瘤药等 16 种常见疾病用药的概述，药效模型建立及主要药效学研究。第四章药品安全性检查方法，讲述了一般药理学实验、急毒、遗传毒、组织病理、药品安全性检测项目实验方法。第五章分子药理学实验，讲述了近代分子生物学常见的技术与进展。第六章讲述了影响药物作用的因素。

本书得到了卫生行业专项药物使用与输血安全相关技术与标准研究（200902008）的支持。主要面向新药研究人员、药品检验行业的药理专业检测人员、药理学相关专业研究生。为他们的药理学实验研究工作提供帮助，是一本全面实用的参考书。

本书邀请了近年来活跃在药理学教学及药理检测第一线，具有一定工作积累及教学经验的中青年学者组成编写班子，并实行主编负责制。由于编者的编写经验不足，编写水平所限和时间仓促，不当之处在所难免，敬请读者在使用过程中给予批评指正。

感谢中国食品药品检定研究院党委副书记丁丽霞百忙之中为本书做序，感谢李波副院长担任本书的主审。刘倩、张媛女士承担了大量辅助工作，在此一并致以诚挚的谢意。

高 华
2011 年 5 月



第一章 药理学实验基础知识	1
第一节 药理学实验设计的基本原则与分组方法	1
一、重复	1
二、对照	1
三、随机	2
第二节 药理学实验结果的记录及整理	2
第三节 药理学实验数据的统计分析	3
一、药理实验指标的分类	3
二、有效数字及其运算规则	3
三、药理实验的样本数	4
四、假设检验	4
第四节 药理学实验常用仪器	6
一、生化分析仪	6
二、血液/血细胞分析仪	6
三、流式细胞仪	7
四、生物机能实验系统	8
五、动物行为活动记录分析系统	9
第五节 药理学实验对实验室环境及操作人员的基本要求	9
一、药理学实验对实验室环境的基本要求	9
二、药理学实验对操作人员的基本要求	10
第六节 药理实验档案整理与归档	10
一、药理实验记录内容	10
二、实验记录用纸	11
三、实验记录的书写	11

四、实验记录的删除、修改或增减数据·····	11
五、图片、照片保存·····	12
六、实验记录的保存·····	12
七、实验记录的签署、检查和存档·····	12
第七节 药理学实验试剂的分级及选用·····	12
第八节 药理学实验常用抗凝剂·····	13
第二章 常用实验动物与基本操作·····	15
第一节 实验动物的分类·····	15
一、实验动物品种、品系的概念·····	15
二、按照遗传学控制程度分类·····	16
三、按照微生物寄生虫学控制程度分类·····	20
第二节 实验常用动物的种类及特点·····	24
一、小鼠·····	24
二、大鼠·····	28
三、豚鼠·····	31
四、家兔·····	34
五、犬·····	36
六、小型猪·····	39
七、猕猴·····	40
八、猫·····	43
九、鸽子·····	44
第三节 实验常用动物的饲养管理及实验应用·····	52
一、小鼠·····	52
二、大鼠·····	55
三、豚鼠·····	58
四、家兔·····	60
五、犬·····	62
六、小型猪·····	64
七、猕猴·····	66
八、猫·····	68
九、鸽子·····	70
第四节 动物实验的基本操作·····	70
一、实验动物的捉持方法·····	70
二、实验动物的编号·····	71
三、实验动物的给药方法·····	72

四、实验动物被毛的去除方法·····	73
五、实验动物的采血方式·····	74
六、实验动物的麻醉·····	75
七、实验动物的处死·····	76
八、实验动物给药剂量的确定·····	76
第三章 主要药效学实验方法·····	79
第一节 抗肿瘤药·····	81
一、抗肿瘤药概述·····	81
二、抗肿瘤药主要药效学研究·····	83
第二节 抗乙型肝炎病毒药物·····	95
一、抗乙型肝炎病毒药物概述·····	95
二、评价抗乙型肝炎病毒的模型·····	96
三、抗乙型肝炎病毒药物的筛选方法·····	100
第三节 抗糖尿病药物·····	103
一、抗糖尿病药物概述·····	103
二、抗糖尿病药物主要药效学研究·····	104
第四节 抗高血压药·····	115
一、高血压实验动物模型概述·····	115
二、抗高血压药主要药效学研究·····	115
第五节 抗微生物药物·····	126
一、抗微生物药物概述·····	126
二、抗微生物药物主要药效学研究·····	126
第六节 抗抑郁药物·····	152
一、抗抑郁药物概述·····	152
二、抗抑郁药主要药效学研究·····	154
第七节 抗急性肝损伤药物·····	158
一、四氯化碳肝损伤模型·····	158
二、氨基半乳糖急性肝损伤模型·····	162
三、对乙酰氨基酚急性肝损伤模型·····	165
四、硫代乙酰胺急性肝损伤模型·····	167
五、刀豆蛋白 A 急性肝损伤模型·····	170
六、脂多糖急性肝损伤模型·····	172
七、 α -萘异硫氰酸酯急性肝损伤模型·····	175
八、酒精急性肝损伤模型·····	176
九、四环素急性肝损伤模型·····	178

十、体外肝细胞损伤模型	179
第八节 防治贫血药物	179
一、缺铁性贫血动物模型及药效学实验	180
二、溶血性贫血动物模型及药效学实验	181
三、再生障碍性贫血动物模型及药效学实验	181
四、肾性贫血动物模型及药效学实验	182
第九节 抗消化性溃疡药物	183
一、抗消化性溃疡药物概述	183
二、抗消化性溃疡药物主要药效学研究	184
第十节 抗心肌缺血药物实验方法	190
一、抗心肌缺血药物概述	190
二、抗心肌缺血药物主要药效学研究	191
第十一节 抗心律失常药物	196
一、抗心律失常药物概述	196
二、抗心律失常药物主要药效学研究	197
第十二节 抗动脉粥样硬化药物	203
一、抗动脉粥样硬化药物概述	203
二、抗动脉粥样硬化药物实验模型及检测方法	204
第十三节 镇痛药物实验方法	210
一、镇痛药物概述	210
二、镇痛药物主要药效学研究	211
第十四节 治疗骨质疏松症药物	222
一、概述	222
二、治疗骨质疏松症药物主要药效学研究	223
第十五节 抗 HIV 病毒药物	231
一、抗 HIV 药物概述	231
二、抗 HIV 药物主要药效学研究	233
第十六节 抗阿尔茨海默病及抗痴呆药物研究方法	244
一、抗阿尔茨海默病及抗痴呆药物概述	244
二、抗阿尔茨海默病及抗痴呆药物主要药效学研究	246
第四章 药品安全性检查方法	255
第一节 一般药理学实验	255
一、概述	255
二、基本原则	256
三、实验设计的基本要求	256

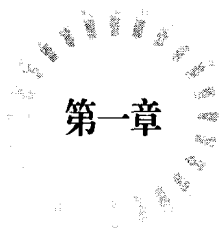
四、主要研究内容	256
五、研究方法	256
第二节 急性毒性实验	271
一、概述	271
二、实验要求	271
三、实验方法	272
第三节 遗传毒性实验	275
一、鼠伤寒沙门菌回复突变实验 (Ames 实验)	276
二、哺乳动物细胞染色体畸变实验	278
三、哺乳动物细胞基因突变实验	280
四、啮齿动物骨骼微核实验	281
五、小鼠淋巴瘤细胞 TK 实验 (MLA)	283
第四节 局部刺激性实验	283
一、概述	283
二、实验方法	283
三、影响刺激性反应和实验结果的因素	293
四、替代法	294
第五节 异常毒性检查法	295
一、实验材料和工具	295
二、供试品溶液	295
三、实验动物	295
四、检查法	295
五、结果判定	296
六、注意事项	296
第六节 过敏反应检查法	296
一、定义	296
二、仪器和用具	296
三、试液	296
四、供试品溶液	296
五、实验动物	297
六、操作方法	297
七、结果判定	297
第七节 溶血与凝聚检查法	297
一、定义	297
二、仪器和用具	297

三、动物	297
四、2% 兔红细胞混悬液的制备	297
五、供试品溶液的制备	298
六、检查法	298
七、结果判定	298
八、注意事项	298
第八节 细菌内毒素检查法	298
一、简介	298
二、实验准备	300
三、基本实验操作	301
四、凝胶法鲎试剂灵敏度复核与光度测定法标准曲线的可靠性实验	304
五、供试品的预处理	305
六、供试品细菌内毒素检查	310
第九节 热原检查	313
一、热原	313
二、热原检查法	314
第十节 降压物质检查法	316
一、定义	316
二、仪器和用具	316
三、溶液配制	316
四、实验动物	317
五、检定法	317
六、测压装置和记录仪的调节	317
七、动物灵敏度的测定	318
八、给药	319
九、结果判定	319
十、注意事项	319
第十一节 无菌检查法	319
一、培养基	320
二、稀释液、冲洗液及其制备方法	322
三、供试品的无菌检查	323
四、供试品处理及接种培养基	325
五、结果判断	327
第十二节 微生物限度检查法	328
一、供试液的制备	328

二、细菌、霉菌及酵母菌计数	330
三、控制菌检查	333
四、结果判断	338
第十三节 细胞毒性实验	342
一、方法提要	342
二、试剂	342
三、主要设备和用具	342
四、细胞株	342
五、实验前准备	342
第十四节 组织病理石蜡切片技术	345
一、取材	346
二、组织的固定	347
三、脱钙	351
四、脱水	353
五、包埋	355
六、石蜡切片的制作	356
七、石蜡切片的异常及处理	358
八、苏木素-伊红染色法	359
第五章 分子药理学实验	363
第一节 PCR 技术	363
一、基本的 PCR 技术	364
二、原位 PCR 技术	368
三、重组 PCR 技术	369
四、免疫 PCR 技术	373
五、荧光定量 PCR 技术	376
第二节 重组 DNA 技术	381
一、外源目的基因的获得	382
二、基因运载体的分离提纯	382
三、重组 DNA 分子的形成	383
四、重组 DNA 导入宿主细胞	384
五、重组克隆的筛选、鉴定和分析	385
六、工程菌的获得和基因产物的分离	388
七、基因表达	388
第三节 分子杂交技术	388
一、核酸探针标记的方法	389

二、几种常见的杂交	396
三、杂交反应的条件及参数的优化	402
第四节 基因芯片技术	403
一、基因芯片技术原理及分类	404
二、基因芯片技术的关键技术环节	405
三、基因芯片的应用和发展方向	409
第五节 反义核酸技术	410
一、反义核酸技术的作用机制和分类	411
二、反义核酸技术中寡核苷酸的序列设计、摄取及转运	412
三、反义寡核苷酸的剂量、给药途径和方式以及毒性	413
四、常见的人工合成的反义寡核苷酸	413
第六节 蛋白质定量方法	414
一、BCA 法	414
二、Bradford 法	415
三、双缩脲法	416
四、紫外分光光度法	417
第七节 酶联免疫吸附测定	418
第八节 聚丙烯酰胺凝胶电泳	421
第九节 Western 印迹法	423
一、基本原理	423
二、实验前准备	423
三、操作步骤	428
第十节 膜片钳技术	432
一、常用记录方式	432
二、应用	433
第十一节 放射配体受体结合实验	433
一、基本原理	433
二、测定方法	436
第十二节 原代大鼠细胞分离与培养	437
一、组织材料的分离	437
二、原代培养	439
第十三节 细胞凋亡检测方法	439
一、形态学观察方法	439
二、DNA 凝胶电泳	440
三、酶联免疫吸附法 (ELISA) 核小体测定	440

四、流式细胞仪定量分析	441
第十四节 流式细胞分析	442
第十五节 免疫组织化学染色	443
第六章 影响药物作用的因素	447
一、药物剂量对药物作用的影响	447
二、给药途径对药物作用的影响	447
三、溶液 pH 对药物跨膜转运的影响	447
四、药物的相互作用	447
五、昼夜节律对药物作用的影响	448
六、肝功能状态对药物作用的影响	450
七、肾功能状态对药物作用的影响	450
附录	451
附录一 常用实验动物的生殖和生理常数	451
附录二 常用实验动物的血液生化指标参数值	452
附录三 常用实验动物的最大给药量和使用针头的规格	452
附录四 常用实验动物采血部位、采血量	453
附录五 常用实验动物麻醉药物用法与用量	455
附录六 常用营养液的组成和配制	456
附录七 常用药物量和浓度的单位	456
附录八 细胞培养常用溶液和培养液制备	457
参考文献	459



第一章

药理学实验基础知识

第一节 药理学实验设计的基本原则与分组方法

药理学实验的目的是通过动物实验来认识药物作用的特点及规律。为使实验结果精确可靠。实验设计必须遵循三项基本原则，即：重复、对照和随机。

一、重复

包括良好的重现性和足够的重复数，有了足够的重复数才会取得较高的重现性。在药理实验中，各类动物的重复数有一个大体范围的参考。

一般情况下实验动物的基本例数：小型动物（小鼠、大鼠、蛙），每组 10 ~ 30 例，中型动物（兔、豚鼠），每组 6 ~ 20 例，大型动物（犬、猫、猴），每组 5 ~ 10 例。

二、对照

应符合“齐同可比”原则，即除了被研究的药物不同之外，其他实验条件应尽量相同。

药理学实验中常采用的对照实验有三种。

(1) 阴性对照 即不含研究中处理因素的对照，应产生阴性结果。

①空白对照：不给任何处理的对照。

②假处理对照：除了不用被研究的药物之外，对照组的动物要经过与实验动物同样的处理。如给予生理氯化钠溶液或不含药物的溶媒。

③安慰剂对照：采用外形相同而不含活性药物的制剂作对照。

(2) 阳性对照 采用已肯定疗效的药品作为对照，应产生阳性结果。

①标准品对照：以标准品或者典型药物为对照，评定药物的作用强度。

②弱阳性对照：以疗效不够理想的传统疗法或者药物为对照，评定新疗法或者新药的价值。

(3) 双盲对照 患者和做研究的医师均不了解用药的分组情况, 只有主持研究者保留名单, 制定具体治疗方案, 并分析实验结果。是新药临床研究中必用的方法之一。

三、随机

指每个实验对象在实验中都有同等的机会被分入实验组和对照组。随机可减少主观因素的干扰, 减少或避免偏性误差。

随机的方法与类型有以下两种。

(1) 单纯随机 所有实验对象完全按随机原则(抽签或随机数字表)抽样分配。但这种随机方法不保证各种影响因素的构成比例在每组中基本相同, 在药理实验中较少应用。

(2) 均衡随机 又称分层随机, 药理学实验中常用该方法。

首先将易于控制且对实验影响较大的因素先分层, 再按随机原则将实验对象分配到各组, 使各组中的多种影响因素得到均衡。

药理实验一般分为阴性对照组、阳性对照组、实验用药组。各组应在“同时同地同条件”下进行。有了对照, 才有比较。采用对照可以随时了解实验条件是否有变化, 还可判断药效的强弱是否有显著意义。实验组与对照组例数相等时, 统计效率最高, 轻视对照或仅用少量动物作对照是不妥当的。实验用药组一般采用3~5个剂量组, 可阐明量-效关系。各组间剂量比为: 整体效应为1.78或1.41; 整体脏器活动为3.16或2; 离体平滑肌为10。

第二节 药理学实验结果的记录及整理

药理实验过程中要对实验数据进行及时、客观、准确的记录。实验结束后要及时对原始记录进行确切合理的整理分析, 且不得以任何方式改变或曲解原始结果。药理实验结果有计量资料、计数资料、描计曲线、心电图、脑电图、照片和现象记录等。对计量资料、计数资料要以统一的单位和正确的数值作定量的表示。为便于分析比较, 可将有关数据用适当的统计表或统计图表示。统计表要求布局合理、表格清晰、表头明确、数据准确。统计图有直方图、曲线图等, 可适当选用。

制作表格及作图时, 有几点注意事项。

(1) 表格应尽量制成三线表, 少用纵向线。一般在表内由左至右的顺序为组别、剂量、动物数、观测指标。

(2) 绘图时, 一般以纵轴表示反应强度, 横轴表示时间或药物剂量, 并在纵轴和横轴上画出数值刻度, 标明单位。在图的下方注明实验条件, 要有标题及适当的图形注释。