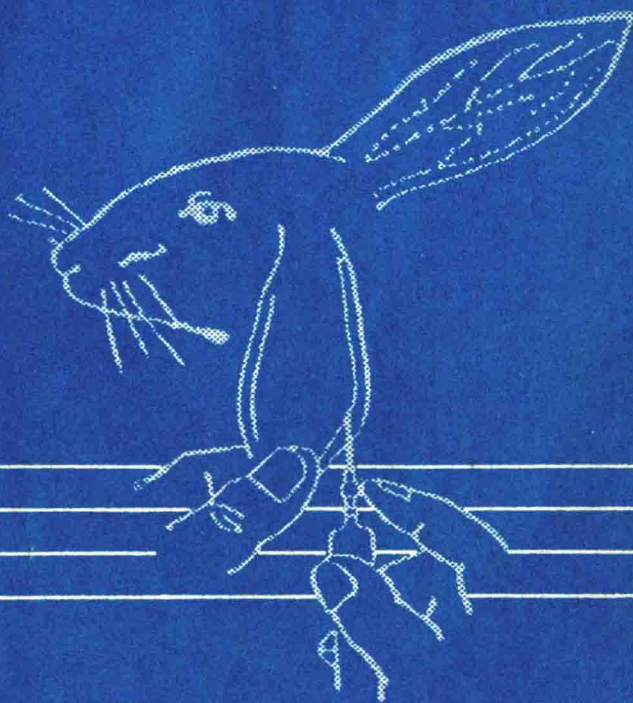


药理学实验教程

YAOLIXUE SHIYAN JIAOCHENG

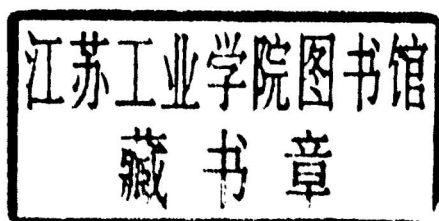
主 编 胡 香 杰 刘 红 鲍 梦 周
主 审 付 润 芳 吕 爱 刚



河南医科大学出版社

药理学实验教程

主 编 胡香杰 刘 红 鲍梦周
副主编 王 豫 吴红霞 张伟平
贾丹辉 贾 磊 戚 敏
主 审 付润芳 吕爱刚



河南医科大学出版社

(豫)登字第 11 号

药理学实验教程

主 编 胡香杰 刘 红 鲍梦周

责任编辑 杨秦予

河南医科大学出版社出版发行

(郑州市大学路 40 号 邮编 450052 电话 0371—6988300)

郑州市南五里堡印刷厂印刷

787×1092 毫米 16 开 7.5 印张 178 千字

1996 年 4 月第一版 1996 年 4 月第一次印刷

印数 1—6000 册

ISBN 7—81048—060—X/R • 60

定价:7.50 元

内 容 简 介

本书是一本可供医学院校本、专科教学使用的实验教材,也可作为药理实验研究的实用参考书。全书共分16章,基本内容为:实验技术基础、实验设计和统计分析、药物基本知识与处方学、药理实验、病例讨论和附录。

药理实验部分为本书的重点内容,划分为药理学总论、传出神经系统、中枢神经系统、心血管系统、利尿药、呼吸系统、血液及造血系统、肾上腺皮质激素、磺胺类与抗生素、免疫系统和其他实验。既有经典的实验方法,又有近年来新的实验技术。

在编写上我们力求做到内容的实用性、系统性、科学性和准确性,本书既是一本药理学实验教材,又是一本方法学的参考书。

《药理学实验教程》编写组成员

(按姓氏笔划)

王 豫(河南省人民医院药剂科)
刘 红(河南医科大学药理教研室)
吴红霞(河南医科大学药理教研室)
吴晓云(驻马店地区制药厂)
张伟平(河南省卫生厅药政处)
胡香杰(河南医科大学药理教研室)
贾丹辉(河南医科大学药理教研室)
贾 磊(河南医科大学药理教研室)
戚 敏(河南医科大学药理教研室)
温洪涛(河南医科大学药理教研室)
鲍梦周(河南医科大学药理教研室)

目 录

第一章 药理学实验技术基础	1
一、实验动物的选择	1
二、常用实验动物的捉拿和给药方法	1
三、实验动物的麻醉及有关注意事项	5
四、实验动物的采血法	5
五、实验动物的处死法	7
第二章 药理实验设计与统计分析	9
一、药理实验设计	9
二、药效统计分析	13
第三章 药物基本知识与处方学	26
一、植物药有效成分	26
二、药物剂型	26
三、药典	28
四、处方学	29
第四章 药理学总论实验	33
实验一、药物剂量对药物作用的影响	33
实验二、给药途径对药物作用的影响	33
实验三、药物的选择作用	33
实验四、药物剂型对吸收的影响	34
实验五、药物对肝药酶的诱导作用	34
实验六、药物的协同作用	35
实验七、药物的拮抗作用	35
实验八、肝功能对药物作用的影响	35
实验九、药物对家兔离体主动脉条作用的剂量——效应关系	36
实验十、药物对家兔离体主动脉条(环)的作用及 PD_2 、 PA_2 的计算	36
实验十一、磺胺类药物的吸收与排泄	38
实验十二、急性毒性实验——序贯法测 LD_{50}	39
第五章 作用于传出神经系统药物实验	41
实验一、药物对豚鼠离体回肠的作用	41
实验二、药物对兔瞳孔的作用	42
实验三、药物对大白鼠血压的影响	43
实验四、肌松剂的肌松作用及抗胆碱脂酶药的拮抗作用	44
实验五、有机磷酸酯类农药中毒及其解救	45

第六章 中枢神经系统药物实验	46
实验一、巴比妥类药物作用比较	46
实验二、苯巴比妥钠的抗惊作用(药物致惊法)	47
实验三、镇静药与中枢兴奋药对小鼠自发活动的影响	47
实验四、氯丙嗪对大白鼠激怒反应的影响	48
实验五、氯丙嗪对小鼠激怒反应的影响	48
实验六、氯丙嗪的降温作用	49
实验七、氯丙嗪的镇静、镇吐作用	49
实验八、安定的抗惊作用(土的宁致惊)	50
实验九、热板法观察吗啡等药物对小白鼠的镇痛作用	50
实验十、电刺激法观察镇痛药和解热镇痛药对小白鼠的镇痛作用	52
实验十一、镇痛药抗酒石酸锑钾“扭体反应”实验	52
实验十二、尼可刹米对吗啡呼吸抑制的解救作用	53
第七章 心血管系统药物实验	55
实验一、强心甙对斯氏离体蛙心的作用	55
实验二、强心甙对八木离体蛙心的作用	56
实验三、强心甙对在体蛙心的作用	57
实验四、在体蛙心灌流实验(Bülbring 法)	58
实验五、强心甙对在体兔心的作用	59
实验六、心得安抗心律失常作用	60
实验七、利多卡因、苯妥英钠、心得安抗心律失常作用	61
实验八、药物急性降压作用	61
实验九、利血平耗竭儿茶酚胺的作用	62
实验十、强心甙对离体豚鼠心脏的作用	62
实验十一、抗心绞痛药物的抗心肌缺氧实验	63
第八章 利尿药实验	65
实验一、速尿、对大鼠的利尿作用	65
实验二、速尿对小鼠的利尿作用	65
实验三、速尿(或利尿酸)对家兔的利尿作用	66
第九章 呼吸系统药物实验	67
实验一、可待因的止咳作用	67
实验二、肾上腺素、氨茶碱的平喘作用	67
实验三、组织胺与异丙肾上腺素对正常豚鼠离体气管条的作用	68
第十章 血液及造血系统药物实验	69
实验一、枸橼酸钠的抗血凝作用	69
实验二、肝素和鱼精蛋白的拮抗作用	69
实验三、止血环酸与止血芳酸对血液凝固过程的影响	70
第十一章 肾上腺皮质激素类药物实验	72
实验一、糖皮质激素的抗炎作用	72

实验二、糖皮质激素的抗过敏性休克作用·····	72
实验三、糖皮质激素的抗内毒素性休克作用·····	73
实验四、糖皮质激素的抗毒作用·····	74
实验五、地塞米松对细胞膜的保护作用·····	74
第十二章 磺胺类与抗生素类药物实验 ·····	76
实验一、磺胺类药物半衰期的测定·····	76
实验二、磺胺药物的体内分布实验·····	77
实验三、青霉素的过敏反应·····	78
实验四、链霉素的毒性反应及氯化钙的对抗作用·····	79
实验五、药物对青霉噻唑蛋白致敏豚鼠离体回肠的作用·····	79
第十三章 免疫系统药物实验 ·····	81
实验一、鸡红细胞吞噬实验·····	81
实验二、碳粒廓清实验·····	81
实验三、药物对免疫功能的影响(定量溶血分光光度测定法)·····	82
实验四、药物对淋巴细胞转化实验的影响·····	83
实验五、对二硝基氯苯致小鼠迟发型皮肤过敏反应实验·····	84
第十四章 其他实验 ·····	85
实验一、受体激动剂与拮抗剂对豚鼠离体回肠作用的剂量——效应关系·····	85
实验二、药物对离体肾脏灌流阻力的影响·····	87
实验三、超氧化物歧化酶活力测定·····	88
实验四、脂质过氧化物——丙二醛(MDA)的测定 ·····	90
实验五、药物对离体基底动脉环的作用·····	92
实验六、药物对豚鼠乳头肌快反应动作电位的影响·····	94
实验七、药物对豚鼠窦房结优势起搏细胞动作电位的影响·····	94
实验八、药物对血小板聚集的影响·····	95
实验九、药物对狗脑血流量及脑血管阻力的影响·····	95
第十五章 病例讨论 ·····	96
附录 1 常用实验动物的生殖和生理常数 ·····	101
附录 2 常用非挥发性麻醉药的用法和用量 ·····	102
附录 3 常用生理溶液的的成分和配制 ·····	103
附录 4 常用抗凝剂的配制、用法和选择 ·····	104
附录 5 人和动物间按体表面积折算的等效剂量比值表 ·····	105
附录 6 常用实验动物的注射量和使用针头规格 ·····	105
附录 7 动物正常血压数值 ·····	106
附录 8 动物心电图正常值 ·····	107
附录 9 药理研究常用缩写词 ·····	108
附录 10 常用法定单位与非法定单位的换算 ·····	111
附录 11 药理研究常用度量衡 ·····	112

第一章 药理学实验技术基础

一、实验动物的选择

在药理学实验中,常根据实验目的和要求选用不同的动物。常用的动物有小白鼠、大白鼠、蛙、蟾蜍、豚鼠、家兔、猫、狗等。选用动物的根据是该动物的某一系统或器官能反映实验药物的选择作用,并符合精简节约的原则。同一类实验还可选不同的动物。如离体肠或子宫实验可选用兔、豚鼠、小白鼠或大白鼠。离体血管实验常用蛙的下肢血管和兔耳血管,也可选用大白鼠后肢血管及家兔主动脉条,离体心脏实验常用蛙、兔,也可选用豚鼠,在体心脏实验选用蛙、兔、豚鼠、猫和狗。实验用各种动物的特点如下:

1. 青蛙和蟾蜍 其心脏在离体情况下,能有节律地搏动很久,因此常用于药物对心脏作用的实验。其坐骨神经腓肠肌标本可用来观察药物对周围神经、横纹肌或神经肌肉接头的作用。

2. 小白鼠 适用于需大量动物的实验,如某些药物(包括抗肿瘤药)的筛选,半数致死量的测定,小白鼠也适用于避孕药的实验。

3. 大白鼠 在需较大体型的实验动物时选用之。如药物的抗炎作用,常用大白鼠的踝关节进行实验。大白鼠也可用于直接记录血压或作胆管插管收集胆汁,膀胱插管可以收集尿液进行利尿药物的实验,亦可描记其心电图进行抗心律失常药物的实验。还常用于观察药物的亚急性 and 慢性毒性。

4. 豚鼠 因其对组胺敏感,并易于致敏,故常用于筛选抗过敏药。如平喘药和抗组胺药实验。也常用于离体心房、心脏、肠管实验。又因其对结核菌敏感,因而常用于抗结核病药的实验治疗研究。

5. 兔 比较驯服,便于静脉注射和灌胃,常用于观察药物对心脏的作用,脑内埋藏电极可研究药物对中枢的作用。由于兔对体温变化比较敏感,常用于体温实验及热原检查。

6. 猫 猫的血压比较稳定,而兔的血压波动较大,故观察血压反应猫比兔好。常用于心血管药和镇咳药的实验。

7. 狗 是记录血压、呼吸最常用的大动物,如降压药、升压抗休克药的实验。狗还可以通过训练使它顺从,适用于慢性实验。用手术做成胃瘘、肛瘘,以观察药物对胃肠蠕动和分泌的影响。在进行慢性毒性实验时,也常采用狗。

二、常用实验动物的捉拿和给药方法

(一)捉拿法

1. 小白鼠 右手抓住鼠尾,放在台上或鼠笼盖铁纱网上,然后用左手拇指及食指沿其背向前抓住其颈部皮肤,并以左手小指和掌部夹住鼠尾,固定在手上。另一抓法是只用左手,先用食指和拇指抓住小鼠尾巴后用手掌及小指夹住其尾部,再以拇指及食指捉住其颈部皮肤。前一法

易学,后一法稍难,但便于快速捉拿给药(见图 1-1)。

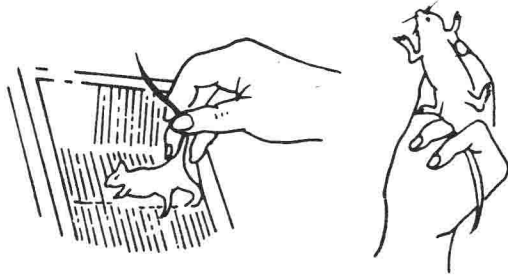


图 1-1 小白鼠的捉拿法

2. 大白鼠 将大白鼠放于粗糙面上,用右手拉其尾部,左手的拇指和食指捉其头部,其余三指夹住背腹部。对于身体特别大或凶狠咬人的大白鼠,可先以布巾包裹其身(露出口鼻),然后进行操作。

3. 家兔 右手抓住家兔颈部皮肤,将兔捉起(抓的面积越大,其承重点越分散),如果家兔肥大,再以左手托住它的臀部,将承重点承托在左手上。

4. 豚鼠 豚鼠性温和,不咬人。以拇指和中指从豚鼠背部绕到腋下,另一手放在臀部,把豚鼠托起。体重轻者可用一只手捉拿,但体重大或妊娠者,有必要用双手来支持体重。

5. 蟾蜍或蛙 一般左手捉蛙,用食指和中指夹住左前肢,用拇指压住右前指。将两下肢拉直,用无名指及小指夹住(见图 1-2)。

(二)给药法

1. 灌胃法

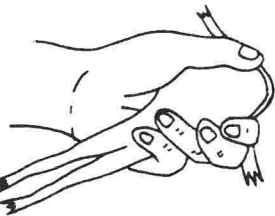


图 1-2 蟾蜍或蛙的捉拿

体重。

(1)小白鼠灌胃法 以左手拿住小白鼠,使腹部朝上,颈部拉直。右手持配有灌胃针头的注射器(长 4~5cm,直径 1mm),先从小白鼠口角插入口腔,压其头部,使口腔与食道成一直线,再沿上颚壁轻轻进入食道。如手法正确,不难成功;若遇阻力,应退出后再插。不能用强力猛插,以免刺破食道或灌入气管,使动物死亡(见图 1-3)。如动物安静,呼吸无异常,可将药液注入,一次投药量为 0.1~0.3ml/10g

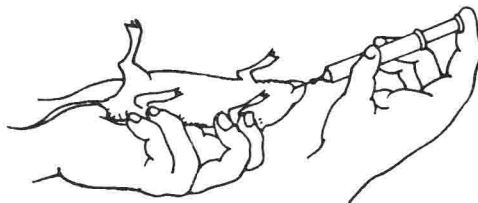


图 1-3 小白鼠灌胃法

(2)家兔灌胃法 需两人合作进行,一人取坐位,用两腿夹持兔身,左手握家兔双耳,右手抓住两前肢。另一人将木制开口器横插入兔口内,压住舌头,将其固定。取合适的胃管(可用导尿管)经开口器中央小孔慢慢沿上颚壁插入食道约 5~6 寸长。为避免误入气管,可将胃管的外口端放入水中,若有气泡从胃管中逸出,表明插入气管内,应拔出重插。当判明胃管确实插在食道内之后,取注射器接在胃管上,将药液推入,再推入少量水或空气,将胃管内药液冲入胃内。

灌胃完毕后先拔出灌胃管,后拿出开口器(见图 1-4)。

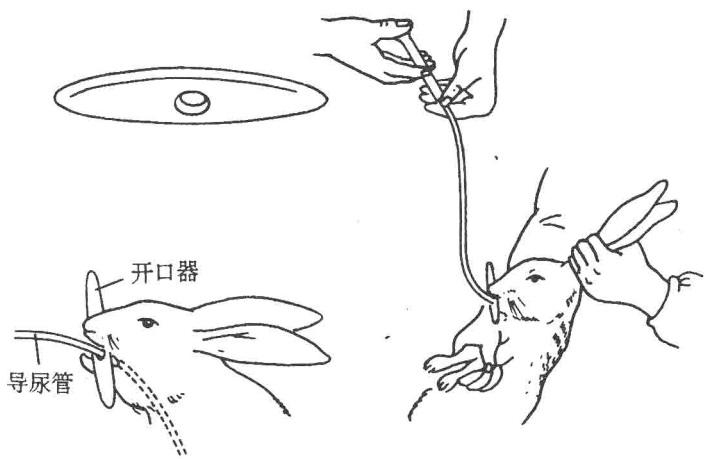


图 1-4 兔灌胃法

2. 注射法

(1)皮下注射 小白鼠皮下注射通常在背部,将皮肤拉起,注射针刺入皮下。把针尖轻轻左右摆动,容易摆动则表明已刺入皮下,然后将药物推入。拔针时,以手指捏住针刺部位,可防止药液外漏。注射药量为 $0.1 \sim 0.2\text{ml}/10\text{g}$ 体重。其他动物皮下注射亦都以背部皮下为宜。(见图 1-5)。

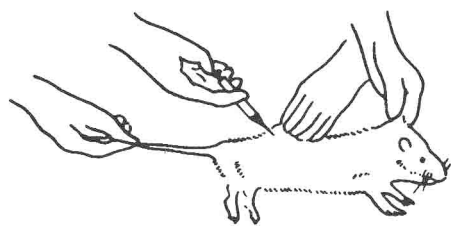


图 1-5 小鼠的皮下注射

(2)腹腔注射 小白鼠腹腔注射可用左手握紧动物,将腹部朝上,右手将注射器针头刺入皮肤。其部位是距离下腹部腹白线稍向左或右的位置。针头到达皮下后,再向前进针 $3 \sim 5\text{mm}$,接着使注射针与皮肤面呈 45° 角刺入腹肌,进入腹腔时应有落空感,然后推入药液。注意,针头不要刺入过深,进针部位不要靠上腹部,以免穿透和刺破内脏。注射药量为 $0.1 \sim 0.2\text{ml}/10\text{g}$ 体重。

大白鼠腹腔注射与小白鼠相同。注射量为 $1 \sim 2\text{ml}/100\text{g}$ 体重(见图 1-6)。

(3)肌肉注射 注射部位一般多取后肢大腿外侧肌肉处,将动物固定,左手抓住大腿,右手持注射器,针头与皮肤表面垂直刺入肌肉(小动物斜刺),回抽无血,即可注药。

小动物一般不作肌肉注射,如需肌肉注射可用 5~7 号针头,小白鼠每腿不超过 0.1ml 。

(4)静脉注射 小白鼠和大白鼠静脉注射一般多用尾静脉。以小白鼠为例,注射前先将动物装入固定筒内或扣入钟罩内,使其尾巴露出,尾部用 $45^\circ\text{C} \sim 50^\circ\text{C}$ 温水浸泡半分钟或用 75% 酒精棉球擦之,使血管扩张并使表皮角质软化。用左手拉住尾尖,选择一条扩张最明显的静脉,右手持注射器,将针头刺入血管,推入药液,如推注时有阻力,且局部变白表明针头没有刺入血管,

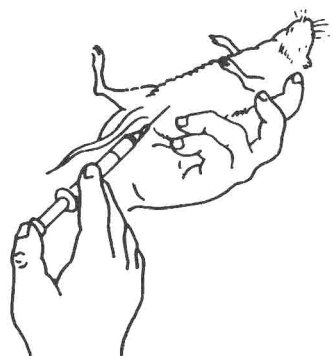


图 1-6 小白鼠腹腔注射法

应拔针后重新穿刺。穿刺血管时宜从鼠尾末端开始,以便失败后可在第一次穿刺点的上方重新开始(见图 1-7)。小白鼠一次注射量为 0.05~0.1ml/10g 体重。

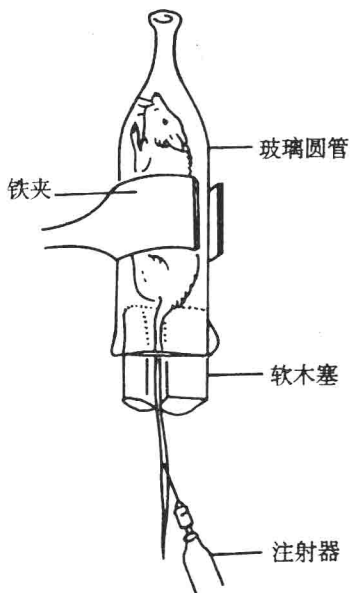


图 1-7 小白鼠尾静脉注射法

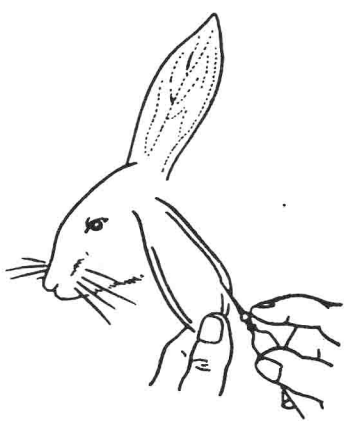


图 1-8 兔耳静脉注射法

家兔静脉注射 一般采用耳缘静脉注射(耳外缘的血管为静脉,中央的血管为动脉)。固定兔身,除去注射部位的兔毛,用酒精棉球涂擦耳部边缘静脉或用手指轻弹耳壳,使血管扩张,以手指于一耳缘根部压住耳缘静脉,待血管明显充血后,右手将带有 18~20 号针头的注射器尽量从静脉末端处刺入血管,一般是注射针先经皮下,后进血管,并使注射针推入血管内少许。以手指将针头与兔耳固定,不让针头滑动。放开耳根静脉手指压力,即可推入药液。如果在血管内,注射则畅通无阻,并可见到血液被药液冲走,如发现有阻力和发白、隆起、肿胀,则表明不在静脉血管内,应拔出重新再扎。注射完毕后,立即用干棉球压在针眼上,将针头拔出,并继续按压片刻,以防出血(见图 1-8)。

豚鼠静脉注射 一般用前肢皮下头静脉,头静脉较后肢小隐静脉易注射。后肢小隐静脉在上部比较明显,但据经验在接近下部易于插入。该处静脉虽不明显,却比较固定,而上部虽较明显,但易动,反不易刺入。也可将皮肤切开一小口,使胫前静脉露出而后注射,注射量不超过 2ml。

(5)其他注射 淋巴囊注射,适用于蛙和蟾蜍,因其皮下有数个淋巴囊,注入药物容易吸收。一般药物注射于胸、腹或股淋巴囊。由于皮肤很薄又缺乏弹性,注射后药物易从针孔溢出,所以胸部淋巴囊注射时应将针头插入口腔,由口腔底部穿过下颌肌再进入皮下,然后注入药液。

此外还有脑内注射(常用于小白鼠)、椎管注射(常用于家兔)、皮内注射(常用于大鼠和豚鼠)、心内注射及椎动脉注射等。

三、实验动物的麻醉及有关注意事项

实验动物的麻醉,是药理实验中的重要部分。恰当的麻醉可保证手术的成功和整个实验的顺利进行。实验动物的麻醉,习惯上指的都是急性实验,仅考虑到实验短时间的麻醉,而不考虑其晚期的死亡,所以对慢性实验是不适宜的。实验动物的麻醉方法与人相似,可以分为全身麻醉和局部麻醉两大类。全身麻醉又分为吸入麻醉和非吸入麻醉两种。

1. 吸入麻醉法 常用药物有乙醚、氯仿和氟烷类等。

大鼠和小鼠 将动物扣在玻璃罩内或烧杯中,然后把含有定量麻醉药棉球或纱布放入杯中,动物因吸入麻醉药蒸气而被麻醉。

兔和猫 将动物置玻璃麻醉箱内,通过挤压瓶不断打气,使挤压瓶中麻醉药徐徐进入箱内,动物便渐渐被麻醉。

犬 将装有少许棉花的圆锥形麻醉口罩套在动物的口鼻上,经小孔滴入麻醉药。麻醉药的蒸气随呼吸进入犬体内发生麻醉。

2. 非吸入麻醉法(注射麻醉法) 非吸入麻醉药在动物实验中应用甚广。各种非吸入麻醉药的选择,可因动物和实验目的及手术经过等因素而不同。犬和兔的慢性手术用戊巴比妥钠麻醉较为合适,麻醉时间可持续2~4小时,麻醉后死亡率低。对大白鼠亦适用,麻醉时间可持续1小时,但对小鼠的麻醉时间很短,不适宜长时手术。

对急性实验麻醉药的选择标准主要是麻醉平稳,对实验的结果没有影响。戊巴比妥钠、巴比妥钠、异戊巴比妥钠、乌拉坦、氯醛糖等均可选用。

非吸入麻醉药的给药方法,常用的是腹腔注射和静脉注射两种。小动物多用腹腔注射,大动物则常用静脉注射。静脉注射的原则是先注射麻醉药总量的 $\frac{3}{4}$,在1分钟内注射完毕,如动物瞳孔收缩为原来的 $\frac{1}{4}$,肌肉松弛,呼吸稍慢,则所用的麻醉药已够量。如果麻醉剂量不足时,隔1分钟后每20秒钟注射少量,直至将总量注完为止。如果动物还未完全麻醉,隔5分钟可以再补充一些,以达到足够的麻醉深度。腹腔注射虽然方便,但是亦有很多缺点,如作用发生慢,兴奋现象明显,麻醉的深浅不易控制,有时偶尔误注入肠腔或膀胱内等。

如果麻醉后动物苏醒则要继续麻醉,可以视动物的情况,补充原来注射麻醉药全剂量的 $\frac{1}{4}$ ~ $\frac{1}{2}$,最好作静脉注射,便于观察动物反应的情况,如果不是用静脉注射时,则宜小量补充,以免过量。

配制的浓度决定于药物的溶解度和动物的用药量。通常大动物每千克(kg)体重用药1ml,小动物每10g体重用药0.1ml,这样的目的是为了避免每次计算剂量的困难,使用方便。常用的非挥发性麻醉药的用法和用量见附录2。

四、实验动物的采血法

(一)小鼠和大鼠的采血法

1. 颈静脉或颈动脉取血 将麻醉的小鼠或大鼠背位固定,剪去一侧颈部外侧毛。作颈静脉或颈动脉分离手术,当动、静脉暴露清楚后,在血管下各穿一根丝线,以供提起血管用,这时即

可用注射针沿血管平行方向以向心端刺入抽取所需血量。体重 20 克的小鼠可取血 0.6ml 左右,体重 300 克的大鼠可取血 8ml 左右。

2. 股静脉或股动脉取血 小鼠或大鼠麻醉固定方法同上,进行左右腹股沟处动静脉分离手术,血管下方分别穿一根丝线,以提血管用,右手持注射器,将注射针平行刺入血管内取血。

3. 心脏取血 先将小鼠或大鼠仰卧于固定板上,剪去心前区毛,以酒精消毒,在左胸侧第 3~4 肋间,用左手食指触摸到心脏搏动处,右手持注射器刺入心腔,抽取所需的血量。也可切开胸腔,从见到的心脏内直接抽取血液。

4. 眶动脉和眶静脉取血 先压迫小鼠或大鼠的眼球使之突出充血后,以止血钳迅速摘取眼球。这时眶内很快流出血液,滴完为止,一般可取动物体重的 4%~5% 的血容量。此法因动物死亡而只宜使用一次。

✓ 5. 眼眶后静脉丛取血 用玻璃管制成长约 7~10cm 的毛细玻管,其一端为内径 1~1.5 mm 的毛细管,另一端渐扩大成喇叭形,毛细管长约 1cm。预先将玻管浸入 1% 肝素溶液中,然后干燥。左手抓住鼠两耳之间的头部皮肤,使头固定,并轻轻向下压迫颈部两侧,引起头部静脉血液回流困难,使眼球充分外突。右手持毛细管,将其尖端插入下眼睑与眼球之间后,轻轻向眼底部方向移动,在该处旋转,以切开静脉丛。把取血管保持水平位稍加吸引,血液即流入玻璃管中(见图 1-9)。取血完毕,拔出取血管同时放开左手,即可使出血停止。此法不仅适用于大鼠,也适用于小鼠、豚鼠、兔等动物,并可在数分钟后在同一穿刺孔重复取血。

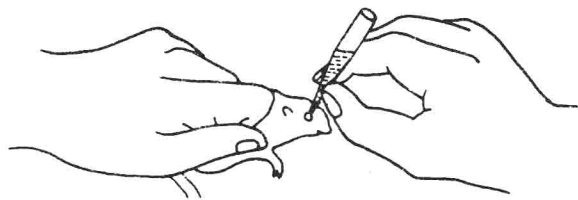


图 1-9 小鼠眼球后静脉丛取血法

6. 断头取血 用剪刀迅速剪掉鼠头,立即将鼠颈向下,提起动物,血液可流入已准备好的容器中。

(二)豚鼠采血法

1. 心脏取血 背位固定豚鼠,摸心脏搏动处。于胸骨左缘第 4~6 肋间插入注射器刺入心脏,血液随心脏跳动而进入注射器内。部分取血可采 5~7ml,采全血量可达 15~20ml。

2. 背中足静脉取血 一人固定豚鼠,另一人以酒精消毒左或右肢膝关节脚背面,找出背中足静脉后,左手拉住豚鼠趾端,右手持注射器刺入静脉,拔针后立即出血而取血。采血后用纱布或棉球压迫止血。若需反复取血时,两后肢可交替使用。

(三)家兔采血法

1. 心脏取血 操作方法类似豚鼠,在左胸 2~4 肋间剪毛一块,用碘酒和酒精消毒。然后用配有 7 号针头的 10ml 注射器,在心跳最明显处进针。针头刺入心脏后即有血液涌入注射器,或边穿刺边抽血,直至血液流入注射器。取得所需血量后,迅速将针头拔出,这样心肌上的穿孔较易闭合。

2. 耳静脉取血 将家兔放入固定箱内,剪去拟采血耳壳上的毛,用电灯照射加热或用二甲苯棉球涂擦耳壳,使耳部血管扩张。用粗针头刺破耳缘静脉,或以刀片在血管上切一小口,让血液自然流出,滴入已放有抗凝剂的容器中。采完血后,用干棉球压住出血口,以便止血。如一时

不易止血,可用木夹夹耳壳 10~20 分钟。

3. 兔耳中央动脉采血法 为使耳中央动脉扩张,先取 1%普鲁卡因溶液 2ml 注入一侧耳根后下方冠状突与侧突间隙的深层软组织,以麻醉支配耳中央动脉的耳神经丛耳支。数秒钟后可见耳动脉充血,若指触脉搏感强,证明麻醉成功。此时即以左手食指与拇指固定中央动脉离心端,穿刺采血。如需多次采血,可按上法再次麻醉,重复采血。

4. 股静脉、颈静脉取血 先作股静脉或颈静脉暴露分离手术。股静脉取血时,注射器平行于血管,从股静脉下端向心方向刺入,徐徐抽动针栓即可取血。颈静脉取血时,注射器由近心端向头侧端顺血管平行方向刺入即可取血。取血完毕后,迅速拔出针头,用干棉球轻轻压迫取血部位以止血。免急性实验的静脉取血,用此法较方便。

(四)猫采血法

从前肢皮下头静脉、后肢的股静脉处取血。若需大量血样时,可从颈静脉取血,方法同家兔取血法。

(五)犬采血法

从前肢皮下头静脉、后肢小隐静脉取血,需多人合作,技术熟练。若取血量大则可从颈静脉取血,方法与兔取血法相同。

五、实验动物处死法

药理实验结束,常须将所用动物处死。实验动物种类不同,处死方法亦不同,为记忆方便,现分述如下。

1. 颈椎脱臼法 用镊子或手指压住小鼠的头后部,另一只手拉住尾巴,用力向后上方拉,使之颈椎脱臼,瞬间死亡。小鼠和大鼠均可用此法处死。

2. 空气栓塞法 用注射器将空气注入静脉(耳静脉、尾静脉、眶静脉等)。可迅速使动物死亡。小鼠可注入 0.3~0.5ml;兔和猫可注入 10~20ml;犬可注入 70~150ml 空气。

3. 注射麻醉法 注射戊巴比妥钠麻醉处死。豚鼠可用其麻醉量 3 倍以上剂量腹腔注射。猫可用其麻醉剂量的 2~3 倍量静脉或腹腔注射。兔可用其麻醉剂量的 2~3 倍注入耳缘静脉内。狗用本药 100mg/kg 静脉注射。

4. 吸入麻醉法 应用吸入乙醚麻醉的方法处死。小鼠和大鼠在 20~30 秒进入麻醉状态,3~5 分钟死亡。应用此法处死豚鼠时,其肺和脑可有小出血点,在病理解剖时宜注意。猫亦可用此法处死。

5. 二氧化碳吸入法 在减压干燥器上,安装长短不同的两根管子,将小鼠或大鼠放入减压干燥器内,盖上盖,从长管送入二氧化碳气体,短管开放以排出干燥器中气体,动物可在 30 秒~3 分钟内死亡。

豚鼠、兔可放进乙烯树脂袋或聚乙烯袋内,挤出袋中空气后,将连接在二氧化碳钢瓶上的软管的另一端放入袋内。握紧袋口。由钢瓶送入二氧化碳气体,当袋半鼓起时停止送气,把袋口密闭直至动物完全停止呼吸。

6. 大量放血法 鼠可采用眼眶动、静脉大量放血致死。猫与猴等在麻醉状态下,暴露出动物的颈动脉,在两端用止血钳夹住,插入套管,然后放松心脏侧的钳子,轻轻压迫胸部,尽可能大量放血致死。犬也可采用股动、静脉放血法处死。硫喷妥钠 20~30mg/kg 静脉注射,犬很快

入睡,然后暴露股三角区,作一个约 10cm 的横切口,将股动、静脉全部切断,立刻喷出血液,用一块湿纱布不断擦去股动脉切口周围的血液与凝块,同时用自来水不断冲洗流血,使股动脉切口畅通,动物在 3~5 分钟内死亡。

(贾 磊 鲍梦周 张伟平)

第二章 药理实验设计与统计分析

药理学实验研究是在个体差异很大的生物机体上进行的,极易受到各种偶然因素的干扰,因此实验前周密合理的实验设计及实验后正确恰当的统计分析对于提高研究工作的效率,保证研究结论的客观性和科学性是至关重要的。

一、药理实验设计

(一)实验设计的基本原则

1. 对照 对照是比较的基础。通过对照可以鉴别处理因素与非处理因素的差异,消除和减少实验误差。所以实验设计必须设立对照组。对照应该符合“齐同可比”的原则,除了所研究的因素外,其他条件(如动物的性别、育龄、体重等)各组应一律“齐同”,这样才具备“可比性”。对照组的类型如下:

(1)阴性对照 包括①空白对照,即不给任何处理的对照,多用于前后对比,用药前的观察值相当于空白对照。两组对比时较少用。②假处理对照,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,如麻醉、手术、注射不含药物的溶媒等。这种对照的可比性好,较常用。③安慰剂对照,即采用外型相同但不含主药的制剂作为对照,这种制剂称为“安慰剂”,目的是为了在临床上消除病人心理因素对药效的影响。安慰剂对有些病人可能呈现各种“药效”或“不良反应”,出现率甚至高达 60%,设立安慰剂对照有利于正确评定药效。

(2)阳性对照 包括①标准品对照,即以典型药物或标准品作为对照,方便评定药物的作用强度。②弱阳性对照,即以药效较弱的老药作为对照。如新药优于老药,并有显著意义,则可肯定新药的价值。

(3)双盲对照 病人和观察疗效的医师均不了解用药分组情况,以避免双方主观因素的干扰,这种方法称为“双盲法”。对于用药组和对照组(常是安慰剂)的划分,只有临床研究主持小组才知道。

2. 随机 在实验组与对照组之间,使非处理因素趋于一致的主要手段是随机化。随机就是使每个实验对象都有相同的机会,按随机原则处理或接受处理,以减少主观因素的干扰,消除偏性误差。例如提取小白鼠分组时,应按提取顺序用随机法决定分入何组,否则活泼敏捷的小白鼠常是最后才捉到,最后几组的小鼠就比前面几组的耐受力要强一些。随机的方法和类型有以下两种:

(1)单纯随机 又称完全随机。每碰到一例,由实验者代为抽卡片,按卡片上的数字作为随机数字。单数者为 A 组,双数者为 B 组。或末位数为 1、2、3 者为 A 组;4、5、6 者为 B 组;7、8、9 者为 C 组;0 者不计而另抽卡片。单纯随机简便易行,但不能保证老幼、雌雄在各组中构成的比例基本相同。

(2)均衡随机 又称分层随机。对重要因素进行均衡,使各组基本一致;对次要因素则按随机处理。例如对小鼠的体重及性别进行均衡,先按雌雄分层放置 2 笼,再按体重分成“雌重、雌