

天气： 晴 温度： 23 °C 湿度： 80 %

日期： 9/18/2024

姓名： 何昱晖 班级： 药 3 同组人： 荣子健、马逸然、赵方一澜

盐酸普鲁卡因 LD₅₀ 的测定

1 实验目的和原理

1.1 实验目的

- (1) 掌握测定药物盐酸普鲁卡因 LD₅₀ 的方法、实验步骤和计算过程；
- (2) 了解药物急性毒性实验的意义，以及药物安全性评价的主要指标。

1.2 实验原理

1.2.1 LD₅₀

质反应量效曲线的横坐标为对数剂量，而纵坐标采用阳性反应发生的频数时，一般为正态分布曲线。如改用累加阳性频数为纵坐标时，可以得到标准的 S 型曲线。该曲线的中央部分（50% 反应处）接近一条直线，斜率最大，其相应的剂量也就是能使群体中半数个体出现某一效应的剂量，通常称为半数效应量。如效应为疗效，则称半数有效量（ED₅₀）；如效应为死亡，则称半数致死量（LD₅₀）。这些数值是评价药物作用强度和药物安全性的重要参数。ED₅₀ 数值越小，药物的作用越强；LD₅₀ 越小，则药物的毒性越大。

LD₅₀ 的测定方法很多，寇式法、图解法、概率法等。本实验采用改良寇式法。此法设计简单、计算方便、要求不高，但精度不够，一般用于毒性的初步测定。改良寇式法取小鼠随机分组、编号、称重。各组按等比剂量分别腹腔注射盐酸普鲁卡因溶液，记录各组动物死亡数，列表统计 p 值。按公式

$$LD_{50} = \lg^{-1} \left[\chi_m - i \left(\sum_{k=1}^n p_k - 0.5 \right) \right]$$

其中

χ_m ：最大剂量组剂量对数；

i ：相邻两组剂量高剂量与低剂量比的对数（相邻两组对数剂量的差值）；

p_k ：各组动物的死亡率，用小数表示；

n : 每组动物数。

设 LD_{50} 的 95% 可信限为 t , 则

$$t = \lg^{-1} \left[\lg LD_{50} \pm 1.96i \sqrt{\frac{\sum_{k=1}^n (p_k - p_k^2)}{n-1}} \right]$$

1.2.2 盐酸普鲁卡因

盐酸普鲁卡因 (化学式 $C_{13}H_{21}ClN_2O_2$), 是一种局麻药, 作用于外周神经产生传导阻滞作用, 依靠浓度梯度以弥散方式穿透神经细胞膜, 在内侧阻断钠离子通道, 使神经细胞兴奋阈值升高, 丧失兴奋性和传导性, 信息传递被阻断, 具有良好的局部麻醉作用。

2 实验材料

- 实验器材: 天平、注射器 (1 mL)、鼠盒;
- 实验动物: ICR 小鼠, 体重 18 ~ 22g, 雌雄兼用;
- 实验药品: 系列浓度盐酸普鲁卡因溶液;
- 其它试剂: 生理盐水。

3 实验方法

每组各 12 只小鼠, 雌雄各半, 称重, 标记。腹腔注射药物。根据实验结果计算相邻剂量的比值为 1 : 0.8, 给药剂量分别为 102.4、128、160、200、250、312mg/kg。按 0.1mg/g 体重给予小鼠腹腔注射不同浓度的盐酸普鲁卡因溶液。给药后, 观察小鼠的行为学情况, 记录小鼠出现死亡时的症状和时间。一般未死亡的小鼠经 15 ~ 30min 将恢复正常。故只需观察 30min 内小鼠的死亡数。

4 实验结果

以下表 1 和表 2 是我组的观察结果：

表 1: 盐酸普鲁卡因 LD₅₀ 的测定——本组数据

| 组别 | 给药剂 量 ¹ | 小鼠性 别 | 小鼠体 重 ² | 给药量 ³ | 给药后小鼠行为学情况 | 是否死 亡 |
|----|-----------------------|----------|-----------------------|------------------|---|----------|
| 1 | 102.4 | ♀ | 23 | 0.23 | 给药后正常爬动；1-3min 内有较多次理毛和舔舐腹部行为；于 5min 左右稍显安静，但爬动与探索鼠盒行为正常；30min 内呼吸正常且仍能以前肢攀爬鼠盒并用后肢支撑起身体；最终未死亡 | — |
| 2 | 102.4 | ♂ | 25 | 0.25 | 给药后正常爬动；1-3min 内较为安静，6min 开始有自由行动；最终未死亡 | — |
| 3 | 128 | ♀ | 26 | 0.26 | 给药后正常爬动；约 4min 时出现后肢无力、拖行爬行现象；6min 后无法正常爬动，改为身体较为瘫软的趴卧状态，呼吸频率较快；安静趴卧时间持续约 10min，后恢复缓慢爬动，约 20min 时可以短暂用前肢攀爬鼠盒并用后肢支撑起身体；最终未死亡 | — |
| 4 | 128 | ♂ | 23 | 0.23 | 给药后正常爬动，爬动频率低，5min 开始尾巴呈翘起状态，变为安静少动；最终未死亡 | — |
| 5 | 160 | ♀ | 24 | 0.24 | 给药后安静少动，步态蹒跚，且后肢无力、向身体两侧摊开的表现；5-10min 眯眼闭目，尾巴变白；最终死亡 | + |
| 6 | 160 | ♂ | 25 | 0.25 | 给药后缓慢爬动；约 2min 时出现后肢无力、向身体两侧摊开的表现；3min 大幅抽搐，举前肢抓挠空气并竖直尾巴，同时有“青蛙跳”行为；5-10min 完全不能正常支撑身体，与鼠盒内 8 号小鼠相互依靠支撑身体，呼吸频率较快且比较艰难；约 18min 开始近正常爬动；22-27min 静趴，后恢复完全正常，最终未死亡 | — |

¹ 单位 mg/kg ² 单位 g ³ 单位 mL

表 2: 盐酸普鲁卡因 LD₅₀ 的测定——本组数据（续表）

| 组别 | 给药剂 量 ¹ | 小鼠性 别 | 小鼠体 重 ² | 给药量 ³ | 给药后小鼠行为学情况 | 是否死 亡 |
|----|-----------------------|----------|-----------------------|------------------|---|----------|
| 7 | 200 | ♀ | 24 | 0.24 | 给药后正常爬动；1min 半变为静趴；2min 半竖 直尾巴开始抽搐，反应剧烈有跳跃行为；3min 开 始举前肢抓挠摆动并持续抽搐；5min 转为侧躺， 继续剧烈抽搐直到 7min；8min 时仅余小幅度心 跳；至 9min 无反应，触摸无心跳，确认死亡 | + |
| 8 | 200 | ♂ | 23 | 0.23 | 给药后正常爬动，有理毛行为；2min 半后开始 小幅抽动，可观察到后腿无力呈现拖行行态； 3min 大幅抽搐，举前肢抓挠空气并竖直尾巴； 4min 半稍缓为原地抖动；5min 可观察到心跳剧 烈，行动力减弱但持续左顾右盼；6min 开始再 度挺尾，抽搐并挣动，间断性发生直到 11min 逐渐平缓；15min 开始近正常爬动；20min 静 趴，后恢复完全正常 | - |
| 9 | 250 | ♀ | 23 | 0.23 | 给药后缓慢爬动，有理毛行为；1min 至 1min 半 时竖起尾巴持续抽搐；2min 半趴下完全不动， 翻过后无反应，触摸无心跳，确认死亡 | + |
| 10 | 250 | ♂ | 24 | 0.24 | 给药后缓慢爬动，1min 后变为静趴；1min 半至 2min 间竖起尾巴持续抽搐；3min 复又趴下，心 跳微弱；5min 时静止不动，翻过后无反应，触 摸无心跳，确认死亡 | + |
| 11 | 312 | ♀ | 24 | 0.24 | 给药 2min 后竖起尾巴并抖动一周；3min 后侧 趴并持续抽搐，可见明显心跳；3min 半时心跳 减弱；4min 半有静止不动，触摸无反应无心跳， 确认死亡 | + |
| 12 | 312 | ♂ | 25 | 0.25 | 给药 1min 时静趴，可观察到心跳；2min 后蹒跚 爬动；3min 后进入半侧躺状态，呼吸变微弱； 5min 半时完全不动，翻过后无反应，触摸无心 跳，确认死亡 | + |

¹ 单位 mg/kg ² 单位 g ³ 单位 mL

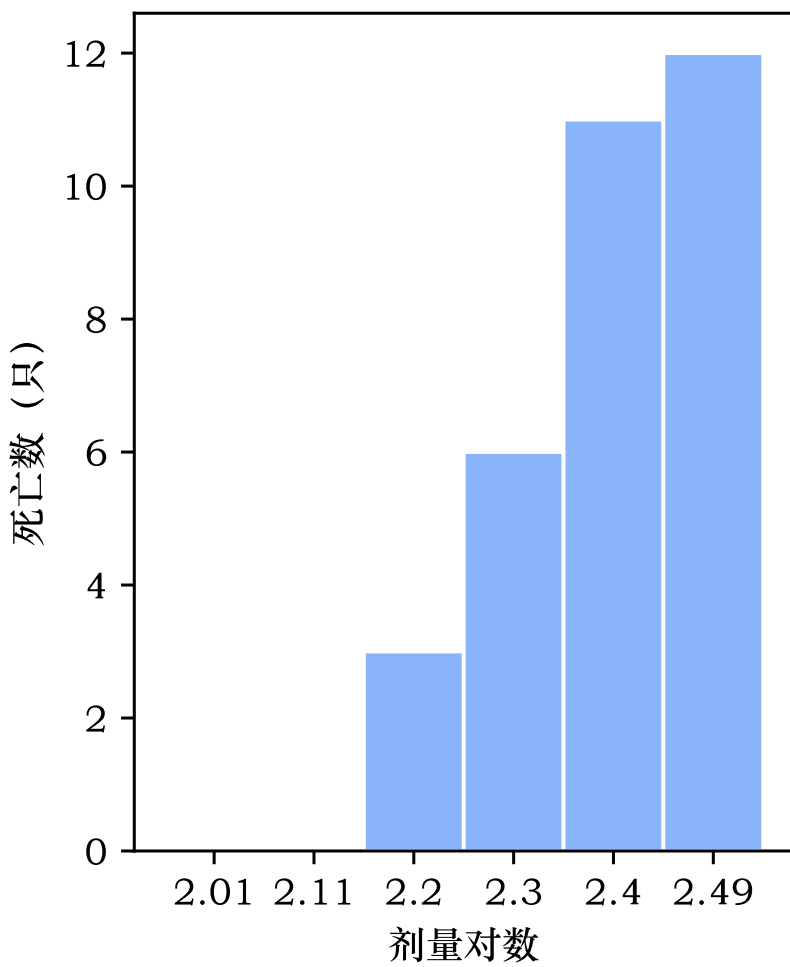
表 3: 盐酸普鲁卡因 LD₅₀ 的测定——全班数据

| 组别 | 剂量 (mg/kg) | 每组只数 | 死亡动物数 | 死亡率 |
|----|------------|------|-------|--------|
| 1 | 102.4 | 12 | 0 | 0% |
| 2 | 128 | 12 | 0 | 0% |
| 3 | 160 | 12 | 3 | 25% |
| 4 | 200 | 12 | 6 | 50% |
| 5 | 250 | 12 | 11 | 91.67% |
| 6 | 312 | 12 | 12 | 100% |

$$LD_{50} = \lg^{-1} \left(\lg 312 - \lg 1.25 \times \left(\frac{32}{72} - 0.5 \right) \right) = 315.89 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$$

盐酸普鲁卡因 LD50 的测定

死亡频数图



死亡率

