

天气: 晴 温度: 25 °C 湿度: 60 %

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

水合氯醛 ED₅₀ 的测定

1 实验目的和原理

1.1 实验目的

掌握药物 ED₅₀ 和 LD₅₀ 的概念、原理、测定方法和意义, 了解治疗指数的意义。

1.2 实验原理

1.2.1 ED₅₀

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。**

测定 ED₅₀ 和 LD₅₀ 的方法基本一致, 只是所观察的指标不同, 常用的测定方法有 Bliss 法 (正规机率单位法), Litchfield-Wilcoxon 几率单位图解法, Kaerber 面积法, 孙瑞元改进的 Kaerber 法 (点斜法) 及 Dixon-Mood 法 (序贯法) 等。其中序贯法需要的动物数最少, 点斜法因其简捷性和精确性更为常用。

本次实验使用点斜法, 应用点斜法时, 实验设计须符合下面 3 点要求:

- (1) 药物剂量设计为 5 ~ 8 组, 应为等比数列, 公比 $r = 1.1 \sim 1.6$;
- (2) 每剂量组动物数应一致, 在 10 ~ 20 只范围内;
- (3) 各组动物的反应率大致符合正态分布。最大剂量 (D_{max}) 组的阳性反应率应 $\geq 80\%$, 最小剂量 (D_{min}) 组的阳性反应率应 $\leq 20\%$ 。

若以 χ_m 为最大反应率组剂量的对数, i 为组间剂量比的对数 (高剂量做分子), p_k 为各组反应率, P_{\max} 为最高反应率, P_{\min} 为最低反应率, n 为各组的动物数, 则

$$ED_{50} = \lg^{-1} \left[\chi_m - i \left(\sum_{k=1}^n p_k - 0.5 \right) + \frac{i}{4} (1 - \mathcal{P}_{\max} - \mathcal{P}_{\min}) \right]$$

设 ED_{50} 的 95% 可信限为 t , 则

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

1.2.2 水合氯醛

水合氯醛时一种有刺激性特臭的易挥发的麻醉用药物, 对中枢神经系统有抑制作用, 主要是抑制脑干网状结构上行激活系统, 降低反射机能。**小剂量镇定, 中等剂量催眠, 大剂量产生全身麻醉和抗惊厥作用, 超过浅麻醉剂量能抑制延髓呼吸中枢及血管运动中枢, 导致死亡。**该药物消化道或者直肠给药能迅速吸收, 脂溶性高, 容易透过血脑屏障和胎盘, 并可泌入乳液, 1 小时达到峰值, 持续 4 ~ 8 小时。水合氯醛由肝脏代谢, 肾脏排泄。

2 实验材料

- 实验仪器: 天平、注射器 (1ml)、鼠盒;
- 实验动物: ICR 小鼠 (每组 10 只);
- 药品: 水合氯醛溶液 (212, 251, 296, 349, 412 mg/kg);
- 试剂: 生理盐水。

3 实验方法

配制一系列水合氯醛溶液, 剂量为 212, 251, 296, 349, 412 mg/kg。每只小鼠按照 0.1ml/10g 腹腔注射给药。

小鼠共分为 5 组, 每组 2 只 (全班共 6 个小组, 每个给药剂量共计每组 12 只), 腹腔基于不同剂量的水合氯醛溶液。

给药后观察 30min 内是否翻正反射消失, 小鼠不翻正持续 1min 判定为阳性结果, 将不同剂量组小鼠翻正反射消失的阳性数量填表。同时仔细观察小鼠在翻正反射消失前后的行为学变化, 包括兴奋性的改变、1min 内小鼠理毛次数的多少。在给药 20min 后观察不同给药剂量组小鼠的行为学变化, 其中安静不爱动为水合氯醛的镇静作用, 闭目睡眠为催眠作用, 翻正反射消失为中枢抑制的麻醉作用, 更大剂量则出现呼吸抑制甚至死亡。

整合全班数据, 计算各剂量的反应率和水合氯醛的 ED_{50} 。

4 实验结果

以下是我组的观察结果，表 1 是雄性小鼠的实验记录，表 2 是雌性小鼠的实验记录：

表 1: 本组中动物体重和性别及给药剂量

动物 编号	体重 ¹	性别	给药 剂量 ²	给药 量 ³	动物行为学变化
1	23	♂	212	0.23	少量出血（几滴），疑似注射至血管等非腹腔部位；小鼠 2min 后从兴奋变为安静少动，有蜷缩行为，呼吸正常；约 5min 时身体舒展，后脚脚心朝上，半闭目；9min 3s 时观察到翻正反射消失，且放回鼠笼后仍长时间睡眠。
2	24	♂	251	0.24	注射后少许液体溢出，疑似注射至皮下；小鼠 5min 后从兴奋变为安静少动，呼吸正常；约 10min 时身体舒展，未闭目；在 5、10、15、20、25、30 min 所进行的检查中均未发生翻正反射消失的现象。
3	23	♂	296	0.23	注射后小鼠有舔舐腹部行为；2min 内小鼠爬行步态变得蹒跚；约 5min 时身体舒展，后脚脚心朝上，闭目；在 5min 时第一次检查，出现抽搐但具有翻正反射；10min 40s 时观察到翻正反射消失，且放回鼠笼后仍长时间睡眠。
4	22	♂	349	0.22	注射后小鼠迅速由躁动变为安静，有蜷缩现象；约 3min 时出现一次突然抽搐；约 5min 时身体舒展且闭目睡眠；5min 时观察到翻正反射消失，且放回鼠笼后仍长时间睡眠。
5	21	♂	412	0.21	注射后小鼠在 2min 内由躁动变为安静，间断爬行但爬行步态逐渐蹒跚；5min 时身体舒展，后脚脚心朝上，闭目；在 5min 时第一次检查，出现抽搐但具有翻正反射（疑似借鼠盒壁支撑力翻身）；11min 时观察到翻正反射消失，且放回鼠笼后仍长时间睡眠。

¹单位 g ²单位 mg/kg ³单位 ml

表 2: 本组中动物体重和性别及给药剂量（续表）

动物 编号	体重 ⁴	性别	给药 剂量 ⁵	给药 量 ⁶	动物行为学变化
6	22	♀	212	0.22	小鼠注射后频繁运动，2min 时变为安静少动，可见明显呼吸，难以人为翻动；约 12min 时达成翻正反射消失，呈侧躺状睡眠；约 40min 时苏醒并再度活跃爬动。
7	23	♀	251	0.23	小鼠注射后频繁运动，但平衡性不佳，直立能力变差；1min 时变为安静少动；约 7min 时达成翻正反射消失，呈侧躺状睡眠，伴有少许抽搐；约 50min 时苏醒并再度活跃爬动。
8	20	♀	296	0.20	小鼠注射后约 1min 时变为安静少动，有少量理毛行为；约 5min 时达成翻正反射消失，呈侧躺偏仰躺状睡眠，四肢呈僵直状。
9	23	♀	349	0.23	小鼠注射后有迟缓爬动，迅速变为安静少动；约 4min 时达成翻正反射消失，进入睡眠。
10	22	♀	412	0.22	小鼠注射后有激烈爬动，方向感与攀援能力变差；约 3min 时达成翻正反射消失，进入睡眠。

⁴ 单位 g ⁵ 单位 mg/kg ⁶ 单位 ml

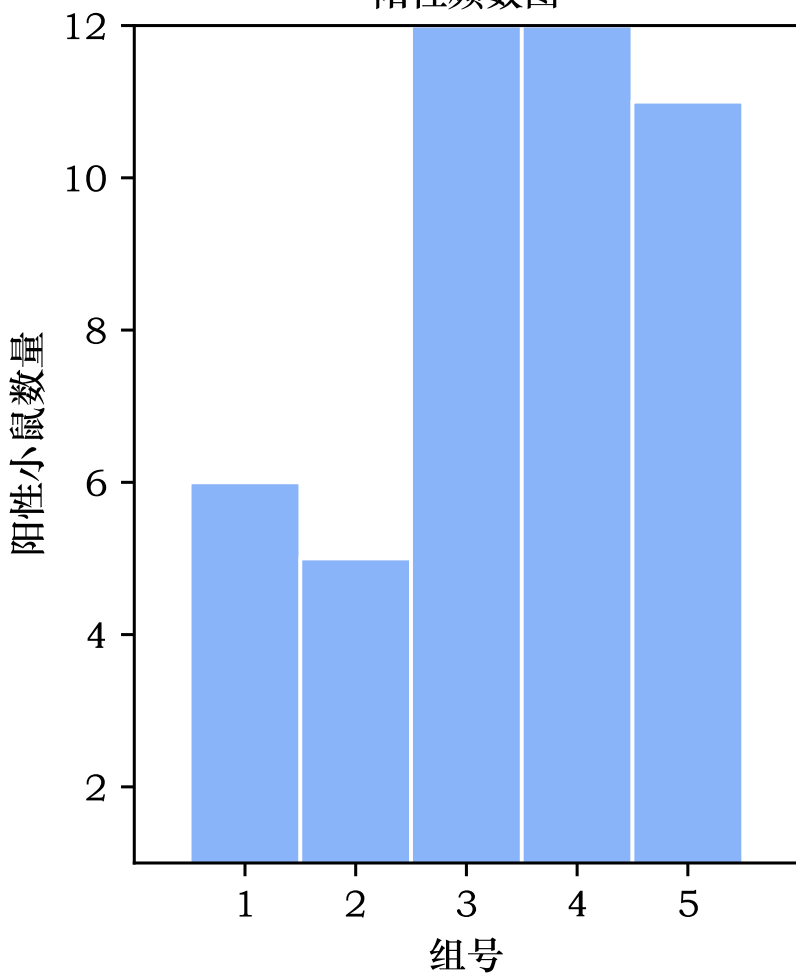
表 3: 小鼠腹腔注射不同剂量水合氯醛溶液后 30min 内翻正反射消失情况——全班数据汇总

组别	剂量 (mg/kg)	每组只数	阳性反应动物数	阳性反应率
1	212	12	6	50.00%
2	251	12	5	41.67%
3	296	12	12	100.00%
4	349	12	12	100.00%
5	412	12	11	91.67%

$$ED_{50} = \lg^{-1} \left(\lg 412 - \lg 1.18 \times \left(\frac{23}{6} - 0.5 \right) \right) = 237.296 \text{ml} \cdot \text{kg}^{-1}$$

水合氯醛 ED50 测定数据

阳性频数图



累加剂量曲线

