

实验一 最大耐受量 / 最大给药量实验

【实验目的】

1. 掌握最大耐受量实验测定的基本方法。
2. 熟悉动物实验的基本操作技术，掌握小鼠尾静脉注射法。

【实验原理】

最大耐受量是指动物能够耐受的且不引起动物死亡的最高剂量。对于某些低毒的受试物可采用最大给药量法进行药物的急性毒性试验，即最大给药量实验。指在合理的最大给药浓度及给药容量的前提下，以允许的最大剂量给予实验动物，观察动物的反应，估计其能达到人用量的多少倍，从而对其安全性做出评估，为临床用药提供参考，也为开展药效学的研究提供科学依据。

【实验对象】

小白鼠，体重 18~22 g，雌雄各半。

【实验药品】

乌头煎剂（约 10%）。

【实验器材】

鼠笼，动物天平，1 mL 注射器，钟罩，酒精棉球。

【实验步骤】

1. 预备实验：用少量动物逐步摸索一个动物不死亡的最大剂量。方法是根据经验或文献定出一个估计量，观察 2~3 只动物的死亡情况。如全死，则降低剂量；如全不死，则加大剂量再行摸索，直到找出一个动物不死亡的最大剂量。
2. 正式实验
 - (1) 动物选择：小白鼠。可根据不同实验选择动物，应选择对被试因素敏感的动物。同时也应考虑动物来源、经济价值及操作简便等条件。急性毒性实验常以小白鼠为实验动物。
 - (2) 给药途径：尾静脉注射。根据拟临床实验的给药途径进行选择。
 - (3) 给药剂量：药物最大浓度，最大给药容积的剂量给药 1 次。

(4) 观察时间：实验观察 1 小时。注：实际需连续观察 7~14 天，详细记录动物反应情况。在观察期间应注意保证食物、水、温度等生活条件，严防非被试因素引起的死亡。

(5) 计算出总给药量 (g/kg)，并推算出相当于临床用药量的倍数。

计算公式如下：

临床用药量的倍数 = (每只小鼠的最大给药量 / 小鼠平均体重) × (成人平均体重 / 成人每日用量)

【附】

1. 小鼠的捉拿和固定操作：捉拿小鼠时应先用右手抓住鼠尾并提起，将鼠放在粗糙的台面或鼠笼上，在其向前爬行时，用右手向后拉尾，用左手的拇指和示指抓住小鼠的两耳及头颈部皮肤，将其置于左手的手心中，拉直四肢并用左手的无名指压紧尾部和后肢，右手即可进行注射和其他操作。取尾静脉血或进行尾静脉注射时，可将小鼠固定在金属或木制的固定器上。

2. 小鼠尾静脉注射操作：注射时，将小鼠置于特制的筒内，露出尾部组织，用 75% 乙醇溶液反复擦拭鼠尾，以达到消毒的目的，并且可使尾部血管扩张。选择尾静脉下 1/3 处，用细针头沿血管方向平行刺入尾静脉。如果药液推入阻力较大，注射部位皮下发白，表示针头未刺入血管内。如推入药液顺利无阻，则表明针头已插入血管，此时，针头固定在鼠尾上，缓缓将药液推入。

【思考题】

1. 最大耐受量是一个相对固定的值吗？
2. 最大给药量是不是一个固定的值？
3. 最大耐受量与半数致死量的关系如何？

(封 瑞 赵金生)

实验二 溶血性实验（体外试管法）

【实验目的】

1. 掌握溶血性实验的原理。
2. 了解溶血性实验的适用范围。

【实验原理】

溶血性实验是观察受试药物能否引起溶血和红细胞凝聚等反应。溶血性反应包括免疫性溶血与非免疫性溶血。免疫性溶血是药物通过免疫反应产生抗体而引起的溶血，为Ⅱ型和Ⅲ型超敏反应；非免疫性溶血包括药物为诱发因素导致的氧化性溶血和药物制剂引起血液稳态的改变而出现的溶血和红细胞凝聚等。溶血性实验是观察受试物是否能够引起溶血和红细胞凝聚等反应。

【适用范围】

凡是注射剂和可能引起免疫性溶血或非免疫性溶血反应的其他药物制剂均应进行溶血性实验。

【实验对象】

家兔，雌雄不限，体重 1.8~2.0 kg。

【实验药品】

注射用降纤酶（临床使用浓度，即 10 U/100 mL），0.9% 氯化钠溶液。

【实验器材】

玻璃试管，移液管（2 mL，5 mL，10 mL），吸耳球，小烧杯，玻璃棒，10 mL 注射器，棉签，乳头吸管，封口膜，离心机，恒温水浴箱。

【实验步骤】

1. 血细胞悬液的配制：取兔血 10 mL，用玻璃棒或棉签杆搅动血液，以除去纤维蛋白原，使其成脱纤血液。加入 0.9% 氯化钠溶液至 10 mL，摇匀，以 1000 r/min 转速离心 15 分钟，除去上清液，沉淀的红细胞再用 0.9% 氯化钠溶液按上述方法洗涤 3 次，上清液不显红色。将所得红细胞用 0.9% 氯化钠溶液配成 2% 的混悬液，供实验用。

2. 受试物的制备：除另有规定外，临床用于非血管内途径给药的注射剂，以各药品使用说明规定的临床使用浓度，用 0.9% 氯化钠溶液 1:3 稀释后作为供试品溶液；用于血管内给药的注射剂以使用说明规定的临床使用浓度作为供试品溶液。

3. 实验过程：取洁净试管 7 支，进行编号，1~5 号管为供试品管，6 号管为阴性对照管，7 号管为阳性对照管。按表 1 所示依次加入 2% 红细胞悬液、0.9% 氯化钠溶液或蒸馏水及受试物（注射用降纤酶），用封口膜将管口封好后，颠倒混匀，立即置 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 的恒温水浴箱中进行温育，开始每隔 15 分钟观察 1 次，1 小时后，每隔 1 小时观察 1 次，观察 3 小时。按表 1 顺序加入各种溶液。

表 1 7 支试管依次加入的溶液

单位：mL

溶液	试管编号						
	1	2	3	4	5	6	7
2%红细胞悬液	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
生理盐水	2.0	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	—
蒸馏水	—	—	—	—	—	—	2.5
受试物	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	—	—

4. 结果观察：如红细胞全部下沉，上清液体无色澄明，表明无溶血发生。若实验中的溶液呈澄明红色，管底无细胞残留为全部溶血发生；若实验中的溶液呈澄明红色，管底有少量红细胞残留，表明有部分溶血发生。若溶液中有棕红色絮状沉淀，振摇后不分散，表明有红细胞凝聚发生。如有红细胞凝聚的现象，可按下列方法进一步判定是真凝聚还是假凝聚。若凝聚物在试管振荡后又能均匀分散，或将凝聚物放在载玻片上，在盖玻片边缘滴加 2 滴 0.9% 氯化钠溶液，置显微镜下观察，凝聚红细胞能被冲散者为假凝聚，若凝聚物不被摇散或在玻片上不被冲散者为真凝聚。

5. 结果判断：当阴性对照管无溶血和凝聚发生，阳性对照管有溶血发生时，若受试物管中的溶液在 3 小时内不发生溶血和凝聚，则受试物可以注射使用；若受试物管中的溶液在 3 小时内发生溶血和（或）凝聚，则受试物不宜注射使用。

【注意事项】

1. 溶血反应发生机制复杂, 目前尚无标准的临床前体内实验方法以全面评价药物制剂的溶血反应, 因此推荐具有相同给药途径上市制剂, 在长期毒性研究中兼顾制剂的溶血性。实验时应注意观察溶血反应的有关指标及体征(如网织红细胞、红细胞数、胆红素、尿蛋白、肾炎和脾脏瘀血等), 如出现溶血时, 应进行进一步研究。

2. 对于已有相同给药途径上市注射剂常可采用常规体外试管法评价药物的溶血性, 若体外试管法实验结果为阳性, 建议与相同给药途径上市制剂进行比较性研究, 必要时进行动物体内实验。

3. 采血后, 玻璃棒或棉签杆搅动血液一定要充分。

4. 观察结果过程中, 不要振摇玻璃试管, 轻拿轻放。

5. 移液管在使用前注意检查管头处是否有破损, 如有, 需更换。

【附】

1. 家兔的捉拿: 家兔习性温顺, 除脚爪锐利应避免被其抓伤外, 较易捕捉。捉拿时切忌以手提抓兔耳、拖拉四肢或提拿腰背部。正确的方法是用右手抓住其颈背部皮毛, 轻提起来, 再以左手托住其臀部, 使兔的体重主要落在左手掌心。

2. 家兔心脏取血: 将家兔仰卧固定在手术台上, 剪去左前胸部被毛, 然后用碘酒、酒精消毒皮肤, 选择心搏最明显处穿刺, 进针后针头偏向胸骨并与水平面呈 45° , 且前后进退调节针头的位置, 当深度约为3.5 cm(9号针头), 感到针头跳动且有血液涌入注射器时, 即可抽血。取得所需血量(10 mL)后, 迅速将针头拔出, 这样心肌上的穿孔易于闭合。经6~7天后, 可以重复进行心脏采血。

【思考题】

1. 本实验中的阳性对照和阴性对照分别是哪个试管? 加入这两个试管的目的是什么?
2. 阳性对照管为什么会出现澄明红色, 原理是什么?
3. 是否还有其他方法检验药物是否溶血?
4. 制备红细胞悬液时, 玻璃棒为什么不要碰到自来水或蒸馏水?
5. 在血细胞悬液的配制过程中为什么要洗涤红细胞?
6. 为何不能用前端破损的移液管吸取血细胞悬液?
7. 在温浴过程中, 恒温水浴箱保持的温度是多少? 为什么?
8. 在体外溶血试验中, 配制的红细胞悬液的浓度是多少?
9. 捉拿家兔时, 正确的抓取部位是哪里?
10. 溶血性试验可能观察到的实验结果有哪些?

(胡慧媛)

实验三 热原实验

【实验目的】

1. 掌握家兔法热原实验的基本原理和操作方法。
2. 掌握家兔耳缘静脉注射方法, 熟悉家兔实验的基本操作技术。

【实验原理】

热原指能引起恒温动物体温异常升高的致热物质。它包括细菌性热原、内源性高分子热原、内源性低分子热原及化学热原等。细菌性热原,是某些细菌的代谢产物、细菌尸体及内毒素。致热能力最强的是革兰阴性杆菌的产物,其次是革兰阳性杆菌类,革兰阳性球菌则较弱,霉菌、酵母菌,甚至病毒也能产生热原。

热原反应是注射剂临床使用的不良反应之一,家兔法热原实验是将一定剂量的供试品静脉注入家兔体内,在规定的时间内观察家兔体温升高的情况,以判断供试品中所含热原的限度是否符合规定。

【实验对象】

家兔,体重 1.7~2.0 kg,雌兔应无孕。

【实验药品】

受试药品,医用生理盐水,75%的乙醇,医用凡士林润滑剂等。

【实验器材】

动物天平,水浴箱,家兔固定盒,直肠用体温计,注射器(2 mL, 5 mL),计时器等。

【实验步骤】**(一) 实验前准备**

1. 家兔的筛选:取健康合格的家兔,在实验前 3~7 日内测定体温,每隔 30 分钟测定一次,共 8 次,8 次体温均应在 38.0~39.6℃ 之间,且最高与最低温度差应在 0.4℃ 以内,方可供热原检查用。
2. 器材的准备:实验用注射器,针头,计量容器等应在烘箱内 250℃ 烘烤至少 20 分钟,以除去热原。
3. 供试品的准备:供试品应按规定溶剂溶解,稀释至规定剂量,并预热至 38℃。

(二) 正式实验

1. 家兔正常体温的测定:取家兔 3 只,俯卧位固定,经肛门插入体温计,深度为 6 cm,停留时间至少 1.5 分钟,每隔 30 分钟测定一次,共 2 次,两次体温相差不得大于 0.2℃。此两次体温的平均值即为该兔的正常体温,见表 2。

表 2 家兔法热原实验结果

编号	正常体温 /℃		平均体温 /℃	给药后体温 /℃						温差 /℃
	1	2		1	2	3	4	5	6	
1										
2										
3										

2. 检查:正常体温测定完 15 分钟以内,自耳缘静脉缓缓注入规定剂量并温热至 38℃ 的供试药品溶液。然后每隔 30 分钟测定体温一次,共 6 次,以 6 次体温最高的一次,减去正常体温,即为该兔体温升高温度。如 3 只家兔中有 1 只体温升高 $\geq 0.6^\circ\text{C}$ 或 3 只中体温升温均 $< 0.6^\circ\text{C}$ 但 3 只升温总和 $\geq 1.4^\circ\text{C}$ 。应另取 5 只家兔复试,方法同上。

(三) 结果判断

1. 合格判断: ①初试 3 只家兔中, 体温升高均在 0.6°C 以下, 并且 3 只家兔升温的总数在 1.4°C 以下的判断为合格。②复试 5 只家兔中, 体温升高 0.6°C 以上的家兔不超过 1 只, 并且初复试合并, 8 只家兔的升温总数为 3.5°C 或 3.5°C 以下, 可判断为符合规定。

当家兔升温为负值时, 均以 0°C 计。

2. 不合格判断: ①初试 3 只家兔中, 体温升高 0.6°C 或 0.6°C 以上的家兔超过 1 只, 可判断为不合格。②复试的 5 只家兔中, 体温升高 0.6°C 或 0.6°C 以上的家兔超过 1 只, 可判断为不合格。③初复试合并 8 只家兔的升温总数超过 3.5°C , 可判断为不合格。

【注意事项】

1. 保持实验室内安静, 避免强烈直射阳光、灯光等刺激。
2. 实验过程中避免家兔骚动, 保持体温稳定。
3. 实验用具使用前要去除热原。
4. 温度计每 3~6 个月校验一次, 不符合要求者不能使用。
5. 实验室的温度应保持在 $17\sim 28^{\circ}\text{C}$ 范围内, 且实验室与饲养室温差 $\leq 3^{\circ}\text{C}$, 实验全过程中室温变化不得大于 3°C 。

【思考题】

1. 热原是如何产生的? 如何避免?
2. 为何用家兔进行热原实验?
3. 家兔法热原实验中应注意哪些问题?
4. 除了家兔法热原实验, 还有哪些方法可以检测热原?
5. 热原法家兔实验有哪些应用?
6. 去除热原的方法有哪些?

(胡慧媛)

实验四 血管刺激性实验

【实验目的】

1. 掌握血管刺激性实验的基本方法。
2. 了解血管刺激性实验的原理及意义。

【实验原理】

血管刺激性实验是指观察动物受试静脉注射剂多次静脉注射后, 血管的炎症刺激情况。根据我国药品相关部门的规定, 静脉注射剂必须进行血管刺激性实验。

【实验对象】

家兔, $1.5\sim 2.5\text{ kg}$, 雌雄不限。选择双耳完好, 耳缘血管没有损伤的健康家兔。

【实验药品】

1. 受试物: 硫酸镁注射液。
2. 对照物: 生理盐水。

【实验器材】

动物天平, 家兔简易固定器, 注射器, 75% 的乙醇, 棉签, 光学显微镜。

【实验步骤】

1. 动物分组: 取家兔 3 只, 采用自体左右侧自身对比法。将每只家兔的左侧耳朵用于注射对照物; 右侧耳朵用于注射受试药物。可用苦味酸标记右侧耳朵, 便于区分。

2. 注射药物: 右侧耳缘静脉以无菌操作方法注射硫酸镁注射液 (临床拟用最高浓度), 左侧耳缘静脉注射等体积生理盐水, 1 次 / 天, 连续给药 5 天。

3. 肉眼观察: 每次注射后, 肉眼观察注射部位有无红肿、充血等刺激现象。按表 3 对肉眼观察结果进行分级。

表 3 肉眼观察分级

级别	血管壁刺激反应	级别	血管壁刺激反应
0	无明显反应	3	中 - 重度充血, 肿胀, 耳下垂
1	轻度充血	4	同 3 级, 且有轻 - 中度坏死
2	轻 - 中度充血, 肿胀	5	同 3 级, 且有重度广泛坏死

4. 病理切片观察: 末次给药后 72 小时, 处死动物, 以耳缘静脉注射点至向心方向, 连续取 3 段血管连同周围组织, 每段 1 cm, 用 10% 甲醛溶液固定, 常规脱水, 石蜡包埋, 切 5 μm 薄片, HE 染色, 光镜下做组织学检查, 另一侧对照血管也同法处理。根据表 4 进行组织病理学分级。其余动物应根据受试药物的特点和刺激性反应情况, 继续观察 14~21 天再进行组织病理学检查, 以了解刺激反应的可逆程度。

表 4 组织病理学分级

级别	血管壁刺激反应	
	坏死或栓塞	水肿、纤维蛋白沉淀、出血或炎性浸润
0	无变化	无变化
1	耳缘静脉	中度, 耳缘静脉周围
2	耳缘静脉	半只耳壳
3	耳缘静脉及半只耳壳的静脉	大于半只耳壳
4	耳缘静脉及 2/3 耳壳的静脉	2/3 耳壳
5	耳缘静脉及全耳静脉弥漫性	全耳弥漫性

5. 结果评价: 根据表 3 和表 4 的结果, 比较给药组与对照组, 以此判定受试药物是否对血管有刺激作用。

【思考题】

1. 血管刺激性实验的研究目的是什么?
2. 血管刺激性实验的结果判断依据是什么?

(赵美昧 赵金生)

实验五 过敏性实验

【实验目的】

1. 了解过敏反应的原理。
2. 掌握中药注射剂经注射给药后有无过敏反应。

【实验原理】

过敏反应又称超敏反应，药物分子本身为过敏原，进入机体刺激免疫系统产生相应的 IgE 抗体，IgE 抗体附着在肥大细胞及嗜碱性细胞上使机体致敏，当同一变应原再次进入机体后，即与肥大细胞及嗜碱性细胞表面的 IgE 抗体发生抗原抗体反应，导致肥大细胞及嗜碱性细胞脱颗粒并释放生物活性介质，作用于不同的组织和器官，产生不同的病理生理反应。

超敏反应通常用于全身主动过敏实验（active systemic anaphylaxis, ASA）、皮肤主动过敏实验（active cutaneous anaphylaxis, ACA）和皮肤被动过敏实验（passive cutaneous anaphylaxis, PCA）等的考察。

【实验对象】

豚鼠，雄性，体重 300~400 g。

【实验药品】

生理盐水、1% 新鲜鸡蛋清、3% 新鲜鸡蛋清、中药注射剂低剂量组致敏液、中药注射剂高剂量组致敏液、中药注射剂低剂量组激发液、中药注射剂高剂量组激发液。

【实验器材】

注射器，超声雾化器，钟罩，鼠笼。

【实验步骤】

1. 致敏：采用腹腔注射方法致敏，隔日 1 次，共 3 次。
2. 实验分组：将豚鼠分成 4 组，每组 6 只，如下操作：
阴性对照组：给予 0.5 mL 的生理盐水，腹腔注射。
阳性对照组：给予 1% 新鲜鸡蛋清 0.5 mL，腹腔注射。
低剂量组：给予中药注射剂低剂量组致敏液 0.5 mL，腹腔注射。
高剂量组：给予中药注射剂高剂量组致敏液 0.5 mL，腹腔注射。
3. 激发：首次注射后第 21 天，分别给予低、高剂量组相应的激发液 0.5 mL，雾化吸入后，观察。
4. 观察指标
(1) 致敏期间：每日观察每只动物的症状。初次、最后一次致敏和激发当日测定每组每只动物的体重。
(2) 激发：雾化吸入后观察，按表 5 症状详细观察每只动物的反应，症状的出现及消失时间。最长观察 3 小时。
5. 结果评价：可按表 6 判断过敏反应发生程度。计算过敏反应发生率。根据过敏反应发生率和发生程度进行综合判断。

表 5 过敏反应症状

0 正常			
1 躁动	6 咳嗽	11 呼吸困难	16 喘息
2 竖毛	7 呼吸急促	12 哮鸣音	17 痉挛
3 颤抖	8 排尿	13 紫癜	18 旋转
4 搔鼻	9 排粪	14 步态不稳	19 潮式呼吸
5 喷嚏	10 流泪	15 跳跃	20 死亡

表 6 全身致敏性评价标准

分值	程度	结果评价
0	-	过敏反应阴性
1~4 症状	+	过敏反应弱阳性
5~10 症状	++	过敏反应阳性
11~19 症状	+++	过敏反应强阳性
20	++++	过敏反应极强阳性

【注意事项】

1. 激发注射后，如果出现过敏反应，应取健康未致敏豚鼠 2 只，静脉注射激发量受试物，以排除药物本身引起的类似过敏反应的症状。
2. 剂量设计应合理，建议选择多个剂量：①进行剂量与过敏反应的量效关系研究，争取找出无过敏反应的剂量；②避免因剂量过低而导致假阴性结果的出现；③帮助判断阳性结果是否因强刺激反应引起。应设立阳性和阴性对照组。

【思考题】

1. 过敏反应分为哪几种类型？
2. 什么样的药物需要考察 I 型过敏反应？
3. 在过敏性实验中，如何选择相应的剂量进行实验？

（邵冬雪）

实验六 皮肤超敏实验

【实验目的】

1. 掌握皮肤超敏实验的基本方法。
2. 掌握速发型超敏反应在皮肤上的表现。
3. 了解动物脱毛的方法，模型构建及检测方法。

【实验原理】

先在豚鼠皮肤表面涂抹受试物，经过一定潜伏期，豚鼠处于致敏状态。当第二次接触大

剂量受试物时，抗原激发豚鼠体内的肥大细胞或嗜碱粒细胞脱颗粒，多种生物活性物质被释放到血液中，豚鼠迅速产生严重的过敏反应，休克甚至死亡。

【实验对象】

豚鼠，雌雄各半，250~300 g。

【实验药品】

- 1. 受试物：固体粉末用水或凡士林稀释混匀，保证受试物与皮肤接触良好。
- 2. 阳性对照物：2, 4- 二硝基氯苯，致敏浓度 1%，激发浓度 0.1%。
- 3. 脱毛剂：硫化钠 25 g，滑石粉 35 g，肥皂粉 5 g，用蒸馏水调制，加适量淀粉调成糊状。

【实验器材】

动物天平，小烧杯，玻璃棒，医用胶布，剪刀，棉签，纱布。

【实验步骤】

- 1. 动物分组：将豚鼠按性别和体重随机分成 3 组：受试物组，赋形剂组（水或凡士林），阳性对照组，每组 6~8 只（雌雄各半）。
- 2. 动物脱毛：在豚鼠背部左右两侧选择实验区，用医用胶布围贴出 5 cm×4 cm 的脱毛区。用蒸馏水将豚鼠脱毛区的毛发润湿，防止操作中鼠毛乱飞。用弯剪刀剪掉长毛，尽量贴着表皮，但不要戳伤皮肤。擦干净掉落的鼠毛，用棉签在脱毛区内均匀涂抹脱毛剂，作用 30 分钟后，用蒸馏水清洗干净。24 小时后，可以供实验用。
- 3. 动物致敏：按照动物分组，分别取受试物，赋形剂，1% 阳性致敏物 0.1~0.2 mL 涂在豚鼠脱毛区。固定豚鼠，防止其舔舐药物，待药物吸收后，再放其自由活动，作用 6 小时后将药物用蒸馏水擦洗干净。第 7 天、第 14 天再分别重复用药。
- 4. 动物激发：在第 28 天，按照分组，将受试物，赋形剂，0.1% 阳性致敏物 0.1~0.2 mL 涂在同一只豚鼠的脱毛区，6 小时后清洗掉受试物，马上观察皮肤反应。分别在 24 小时，48 小时和 72 小时观察皮肤的超敏反应。
- 5. 结果评价：观察豚鼠皮肤的红斑和水肿程度，按表 7 对受试物引起的皮肤超敏反应进行评分。再按表 8 判断致敏率。

表 7 皮肤超敏反应评分标准

皮肤过敏反应		得分
红斑形成	无红斑	0
	轻度红斑，勉强可见	1
	中度红斑，明显可见	2
	重度红斑	3
	紫红色红斑并有焦痂形成	4

续表

皮肤过敏反应		得分
水肿形成	无水肿	0
	轻度水肿，勉强可见	1
	中度水肿，明显可见（边缘高出周围皮肤）	2
	重度水肿，皮肤隆起 1 mm，轮廓清楚	3
	严重水肿，皮肤隆起 1 mm 以上并有扩大或有水泡或破溃	4

表 8 致敏率分类

致敏率 /%	反应强度	致敏率 /%	反应强度
0~10	弱致敏性	61~80	高度致敏性
11~30	轻度致敏性	81~100	极度致敏性
31~60	中度致敏性		

评价各组动物的得分，并求出平均分：

反应平均值 = (红斑形成总分 + 水肿形成总分) / 合计动物数

计算致敏率时不论皮肤红斑和水肿的轻重程度，都要计数为出现超敏反应的动物例数：

致敏率 (%) = (皮肤红斑动物数 + 水肿动物数) / 受试动物总数 × 100%

【思考题】

- 1. 超敏反应的原理是什么？
- 2. 皮肤超敏实验的研究目的是什么？
- 3. 为什么要在脱毛 24 小时后再进行实验？
- 4. 皮肤超敏反应常用的实验动物是什么？为什么？
- 5. 本实验中为什么要设立赋形剂组？
- 6. 动物脱毛的方法有哪些？
- 7. 致敏率是如何计算的？

(孙雪菲)

实验七 半数致死量实验

【实验目的】

- 1. 掌握 LD₅₀ 计算方法和急性毒性分级标准。
- 2. 熟悉经口灌胃技术。
- 3. 了解急性毒性实验的设计原理。

【实验原理】

半数致死量（median lethal dose, LD₅₀）指在一定的实验条件下，一群实验动物用药后，半数动物死亡的计量。

改良寇氏法，计算简便，准确率高。要求：每组动物数相等，各剂量组组距呈等比级数，死亡呈正态分布，最低剂量组死亡<20%，最高剂量组死亡>80%，死亡不倒置。

【实验对象】

昆明小白鼠，雌雄各半，20~25 g。

【实验药品】

不同浓度的敌敌畏，苦味酸。

【实验器材】

鼠笼，动物天平，1 mL 注射器，小鼠灌胃针，电子计算器。

【实验步骤】

- 1. 动物分组：小白鼠随机分组，取 10 只一组。
- 2. 剂量设计：5 个剂量组，最高、高、中、低、最低。
- 3. 动物称重、编号、标记。
- 4. 灌胃：1 mL/100 g 体重。
- 5. 观察：急性毒性实验原始记录，数据填入表 9。

表 9 急性毒性实验原始记录

剂量组别 / (mg/kg)	动物编号	性别	体重 /g	给药量 / mL	给药时间	体征及出 现时间	死亡时间	体重记录
-------------------	------	----	-------	-------------	------	-------------	------	------

6. LD₅₀ 计算：根据表 10 中的数据，计算 LD₅₀ 及 95% 可信限。

表 10 小白鼠经口用药死亡情况

组别	剂量		动物数 (n)	死亡数 (n)	死亡率 (p)	存活率 (q)	p×q
	mg/kg	对数					
1							
2							
3							
4							
5							
i=		Σ P=					

计算公式:

$$M = X_k^{-1} (\sum p - 0.5), \quad LD_{50} = \log^{-1} M, \quad S_m = \sqrt{i \sum \frac{pq}{n}}$$

$$LD_{50} \text{ 的 } 95\% \text{ 可信限} = \log^{-1} (M \pm 1.96 S_m)$$

式中, M : $\log LD_{50}$; i : 相邻两剂量组对数值的差; n : 每组动物数; X_k : 最大剂量的对数值; p : 死亡率; q : 存活率; $\sum p$: 各剂量组死亡率总和; S_m : $\log LD_{50}$ 的标准误。

【思考题】

1. 小白鼠如何分组?
2. 小白鼠中毒后能观察到哪些症状? 95% 可信限的含义是什么?

(孙雪菲)

第2部分

习 题 集



第1章 绪 论

一、选择题

A 型题

1. 药品的基本要求是 ()。
A. 安全有效和价格合理
B. 安全有效和使用方便
C. 安全有效和质量可控
D. 使用方便和质量可控
E. 价格合理和效果可靠
2. 下面对药物和毒物的描述, 正确的是 ()。
A. 药物在治疗剂量下不会出现毒性作用
B. 药物是人工合成的, 毒物是天然存在的
C. 毒物是人工合成的, 药物是天然存在的
D. 药物与毒物之间并没有严格的界限
E. 药物只有在剂量绝对大时才能产生毒性
3. 药物毒理研究的“硅上发现”技术是指 ()。
A. 应用整体动物的实验技术
B. 应用离体组织的实验技术
C. 利用信息和智能软件的技术
D. 蛋白质组学实验技术
E. 基因组学实验技术
4. 1937 年美国发生的造成 107 人肾功能衰竭死亡的药害事件是由 () 制剂引起的。
A. 二甘醇磺胺酞剂
B. 乙醇磺胺酞剂
C. 丙二醇磺胺酞剂
D. 西立伐他汀钠片
E. 庆大霉素注射液
5. 发现毒理学是指 ()。
A. 发现机体接触化学物质产生有害作用的科学
B. 新药研发早期即新药发现阶段的毒理学研究
C. 研究发现药物毒性作用机制的科学

- D. 发现、评价外源性物质对动物及人的安全性的影响
E. 发现毒物的危害因素并进行危险性评估
6. 促成美国《食品、药品和化妆品法》法案确立和FDA成立的事件是()。
- A. 二甘醇磺胺酰剂事件 B. 沙利度胺(反应停)致畸事件
C. 苯丙醇胺致出血性脑卒中事件 D. 氨基比林致白细胞减少事件
E. 西立伐他汀致横纹肌溶解事件

B 型题

- A. 药物描述毒理学 B. 药物机制毒理学 C. 药物管理毒理学
D. 发现毒理学 E. 药物毒效动力学
7. 主要观察药物毒性作用的结果,如急性毒性等的是()。
8. 阐明药物对机体产生毒性作用的生物学过程的是()。
9. 提出对药物安全性评价和临床研究的指导原则的是()。
10. 新药研发早期与药效学筛选并行开展的对新化合物进行毒理学研究的是()。

C 型题

- A. 药物毒效动力学 B. 药物毒代动力学
C. 两者均有 D. 两者均无
11. 药物毒理学包含()。
12. 药理学包含()。
13. 研究药物对机体的有害作用及作用机制的是()。
14. 研究机体对产生毒性作用的药物的处置动态变化及规律的是()。

X 型题

15. 药物毒理学学科的主要任务是()。
- A. 观察新药对机体健康的危害作用及程度
B. 阐明药物的毒性作用机制和相关的防治措施
C. 为药物的风险管理提供理论和实践依据
D. 参与新药研发早期的化合物筛选
E. 阐明药物的药效学机制

二、填空题

1. 从动物的福利等因素考虑,近几十年来逐步倡导和实施实验动物使用的3R原则是()、()和()。
2. 药物毒理学主要包括()和()两方面的研究。
3. ()年,美国最先成立了毒理学专业机构——美国毒理学会。
4. 世界上最早的药学专著(),其中描述了药物的毒性作用及相应的解毒剂。

5. 1978 年, 美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 制定颁布了 (), 对新药在非临床研究中研究计划制定、实施、监督、记录及报告等工作提出了指导原则和质量管理规范。

三、判断题

1. 1937 年, 在美国发生的二甘醇磺胺酞剂事件中, 该试剂所致的毒性反应是急性肝功能衰竭。 ()
2. 沙利度胺 (反应停) 致畸事件主要发生在美国。 ()
3. 药物毒理学主要在新药开发的后期参与, 表明了药物毒理学在药物研发及应用中的重要地位和作用。 ()

四、名词解释

1. 药物毒理学
2. 药物
3. 毒物
4. 发现毒理学

五、专业名词汉译英

1. 药物毒理学
2. 药物
3. 毒物
4. 药物毒效动力学
5. 药物毒性代谢动力学
6. 药物描述毒理学
7. 药物机制毒理学
8. 药物管理毒理学
9. 发现毒理学
10. 代谢组学

六、问答题

1. 药物毒理学主要的学科任务是什么?
2. 药物毒理学主要有哪三大研究领域?
3. 药物毒理学实验中实验动物使用的 3R 原则是什么?
4. 药物毒理筛选的研究新技术和新方法有哪些?

5. 简述药物毒理学的研究现状和发展趋势。

七、病例题

2006年4月,广东省药品不良反应监测中心通过药品不良反应(adverse drug reaction, ADR)监测和报告系统发现某医院使用某药厂生产的亮菌甲素注射液出现急性肾衰竭。经查明原因为:该药处方中丙二醇被化工原料“二甘醇”所替代。结合病例请回答如下问题:

- (1) 历史上二甘醇还引起过什么药害事件?
- (2) 该事件给我们什么启示?

(郝丽英)

第2章 药物毒效动力学

一、选择题

A型题

1. 关于药物毒性作用的靶分子,正确的描述是()。
A. 通常是ATP
B. 通常是辅酶A
C. 通常是一些高能化合物
D. 通常是活性氧
E. 通常是生物大分子
2. 以健康人体为实验对象,主要考察以下药物安全性的临床试验为()。
A. I 临床试验
B. II 临床试验
C. III 临床试验
D. IV 临床试验
E. V 临床试验
3. 特异质反应是()。
A. 属于免疫反应(超敏反应)
B. 常见于过敏体质患者
C. 严重程度与剂量无关
D. 与药物固有的药理作用完全不同
E. 是用药者先天性遗传异常引起的
4. 终毒物与靶分子的反应有()。
A. 非共价键结合
B. 氢键吸引
C. 电子转移
D. 共价键结合
E. 以上全是
5. 下列分子中,哪些通常不是药物毒性作用的靶分子()。
A. ATP
B. 脂质
C. 核酸
D. 蛋白质
E. DNA
6. 关于新药临床前毒理学研究,哪项是不正确的()。
A. 发现中毒剂量
B. 能发现所有的毒性反应
C. 确定安全范围
D. 寻找毒性靶器官
E. 判断毒性的可逆性
7. 下述药物中,治疗指数最大的药物是()。
A. A药 $LD_{95}=200\text{ mg}$, $ED_5=100\text{ mg}$

- B. B 药 $LD_{99}=100\text{ mg}$, $ED_1=50\text{ mg}$
C. C 药 $LD_{50}=300\text{ mg}$, $ED_{50}=100\text{ mg}$
D. D 药 $LD_{50}=50\text{ mg}$, $ED_{50}=10\text{ mg}$
E. E 药 $LD_{50}=100\text{ mg}$, $ED_{50}=50\text{ mg}$

B 型题

- A. 绝对致死剂量 (LD_{100})
B. 半数致死剂量 (LD_{50})
C. 最小致死剂量 (MLD, LD_{01})
D. 最大非致死剂量 (LD_0)
E. 安全范围 (MOS)
8. 最小致死量与最大有效量之间的距离是 ()。
9. 药物引起受试实验动物半数死亡的剂量或浓度是 ()。
10. 药物不引起受试实验动物死亡的最大剂量或浓度是 ()。
11. 药物引起个别受试实验动物死亡的最小剂量或浓度是 ()。
12. 药物引起受试实验动物全部死亡的最低剂量或浓度是 ()。

C 型题

- A. 非共价结合
B. 共价结合
C. 两者均有
D. 两者均无
13. 具有不可逆性, 能改变生物大分子结构的作用方式是 ()。
14. 键能相对低, 通常是可逆的作用方式是 ()。
15. 终毒物与靶分子相互作用的反应类型有 ()。
16. 磺胺类药物在肾小管或集合管内形成结晶的反应是 ()。

X 型题

17. 药物毒性的预防原则包括 ()。
A. 充分了解药物毒性危险度
B. 详细询问患者的药物过敏史
C. 不必询问用药史及家族史
D. 掌握适应证, 制定合理用药方案
E. 用药期间注意毒性指标的监测
18. 药物毒性作用的治疗原则包括 ()。
A. 立即停药, 清除毒物
B. 治疗原发病和并发症
C. 过敏性休克首选肾上腺素
D. 过敏性休克首选糖皮质激素
E. 有感染者不能进行抗菌药治疗

二、填空题

1. 修复不全导致的毒性有 ()、() 和 ()。
2. 药物毒性作用的靶分子通常有大分子的 ()、() 和小分子的 ()。
3. 长期毒性试验又称 () 给药毒性试验。

4. 急性毒性试验指 () 次或 24 小时内多次给药的毒性试验。
5. 新药临床研究的Ⅳ期临床实验是在广泛、长期使用条件下观察新药的疗效和 ()。

三、判断题

1. 变态反应也称为超敏反应, 其性质与药物固有的效应及所用剂量均无关, 用药理拮抗剂解救亦无效。 ()
2. 特异质反应 (idiosyncrasy) 由先天遗传性因素造成的患者对某些药物反应特别敏感, 反应严重程度与剂量成正比, 药理拮抗药解救可能有效。 ()
3. 非共价结合具有不可逆性, 能从结构上改变体内生物大分子, 因此在药物毒理学上有重要意义。 ()
4. 上市的新药, 均经过了临床前药物毒理学试验以及新药Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ期临床试验, 所以, 可以完全放心使用。 ()

四、名词解释

1. Ⅰ期临床试验
2. 终毒物
3. 毒性反应
4. 质反应
5. 绝对致死剂量 (LD_{100})
6. 半数致死剂量 (LD_{50})
7. 最小致死剂量 (MLD, LD_{01})
8. 最大非致死剂量 (LD_0)
9. 观察到有害作用的最低水平 (lowest observed adverse effect level, LOAEL)
10. 未观察到有害作用水平 (no observed adverse effect level, NOAEL)
11. 治疗指数 (therapeutic index, TI)
12. 安全范围 (margin of safety, MOS)

五、专业名词汉译英

1. 靶器官
2. 毒性反应
3. 变态反应
4. 致癌毒性
5. 生殖毒性和发育毒性
6. 致突变与遗传毒性
7. 特异质反应

8. 依赖性

六、问答题

1. 常见的药物毒性作用包括哪几种类型?
2. 新药的临床研究包括哪几个阶段?
3. 新药临床前毒理学研究的目的是意义有哪些?
4. 上市前药物临床试验的局限性主要表现在哪几个方面?
5. 药物相互作用的类型有哪些?

七、病例题

1. 拜斯亭, 通用名称为西立伐他汀钠, 是德国拜耳 (Bayer) 公司研发的一种他汀类调脂药, 1997 年上市, 1999 年进入中国市场。拜斯亭的调脂效果好, 受到医患的欢迎。然而随着药物的广泛使用, 全球共收到因服用拜斯亭而产生横纹肌溶解所致的死亡报告 52 例, 我国亦有使用拜斯亭引起横纹肌溶解的病例报道。拜斯亭引起致死性横纹肌溶解症显著多于已上市的其他同类产品, 2001 年 8 月拜斯亭撤离全球市场。

请结合病例回答下列问题:

(1) 拜斯亭的调脂效果好, 导致其撤市的原因是什么?

(2) 新药上市后仍必须关注什么问题?

2. 70 kg 健康志愿者, 给予 1.1 g 某化合物后, 血浆浓度为 10 mg/L, 假设生物利用度为 100%, 请计算该化合物的表观分布容积 (V_d), 并说明可能的组织分布 (70 kg 人体液容积参考值: 血浆, 5 L; 细胞外液, 10~20 L; 总体液, 40 L)。

3. 如图 1 所示, 某药给药剂量为 2.3 mg/kg 时, 按曲线 a 消除; 给药剂量为 4.7 mg/kg 时, 按曲线 b 消除。请根据图示回答两种剂量下的半衰期是否一致, 并说明可能的原因。

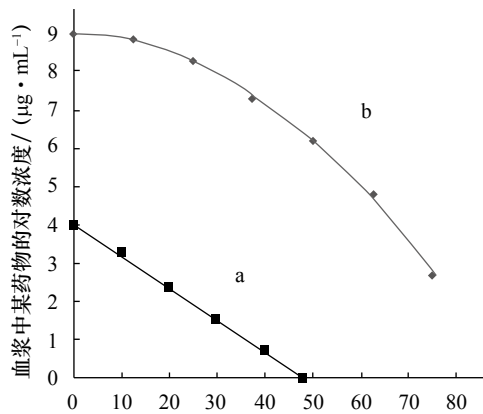


图1 末次给药后时间/h

(郝丽英)

第3章 药物毒代动力学

一、选择题

A 型题

1. 药物与血浆蛋白结合后, 其 ()。