

# 第一章 药理学总论

## 第一节 实验动物的基础知识

### 【实验动物的定义】

实验动物指经人工饲养，遗传背景明确或者来源清楚的，用于科学研究、教学、生产、鉴定以及其他科学实验的动物。实验中通常对其携带的微生物实施监控。

实验用动物泛指用于实验的动物，其只表明该类动物被用于实验这一用途属性，不表明该类动物的质量属性或其使用的规范性。实验动物具有如下特征：①遗传背景明确；②对携带微生物和寄生虫实施监控；③在特定的环境条件下进行人工繁殖；④应用范围明确；⑤具有政府制定法律法规进行监管的许可证制度和质量监督制度等。

### 【实验动物的种类】

实验动物是现代生命科学研究的重要组成部分，是生命科学特别是生物医学研究的基础和重要支撑条件，功能验证和安全评价离不开实验动物，其发挥着其他研究技术和手段无法替代的作用。根据国家标准，实验动物分为普通级、清洁级、无特定病原体级和无菌级四个等级。

普通级动物指不携带所规定的人兽共患病病原和动物烈性传染病病原的实验动物。

清洁级动物指除了普通级动物应排除的病原体外，不携带对动物危害大和对科学研究干扰强的病原的实验动物。

无特定病原体动物（specific pathogen free animal，SPF）指除了清洁级应排除的病原外，不携带主要潜在感染或条件性致病，以及对科学实验干扰强的病原的实验动物。

无菌动物是不携带任何以现有手段可检出的微生物和寄生虫的实验动物。

## 【实验动物的特点】

动物实验方法是药理学研究中不可缺少的重要手段，常用的实验动物有蟾蜍、小鼠、大鼠、豚鼠、家兔、猫和犬等。

1. **蟾蜍** 属两栖纲、无尾目、蟾蜍科。蟾蜍离体心脏能持久有节律地收缩，常用来观察心脏的生理功能及药物对心脏的影响。蟾蜍腓肠肌和坐骨神经样本用来观察药物对周围神经、骨骼肌及神经肌肉接头的作用。蟾蜍腹直肌标本还能用来观察胆碱能药物的作用。

2. **小鼠** 属脊椎动物门、哺乳动物纲、啮齿目、鼠科、小家鼠种。在各种药理学实验中，以小鼠应用最为普遍。目前有 500 多个远交群和近交系，是当今世界上研究最详尽的哺乳类实验动物，常用的小鼠品系有昆明小鼠、C57BL/6 小鼠、BALB/c 小鼠、129 小鼠等。小鼠与人类的基因相似度为 90% ~ 99%，且易于大量繁殖、价格低廉，适用于药物筛选、各种毒性实验（急性实验、亚急性和慢性毒性实验，半数致死量的测定等）等。小鼠为夜行性动物，其饮食与活动在夜间会增加，雄性好斗，群居优势明显，对外界环境反应敏感。

3. **大鼠** 属脊椎动物门、哺乳动物纲、啮齿目、鼠科、家鼠属、褐家鼠种。外观与小鼠相似，但个体较大。常用的大鼠品系有 Wistar 大鼠、Sprague Dawley (SD) 大鼠等，广泛应用于医药学、生物学、毒理学和营养学研究。Wistar 大鼠是我国引进最早的大鼠品种，性情温顺、繁殖力强，对传染病的抵抗力较强，自发肿瘤发生率较低；SD 大鼠生长发育较 Wistar 大鼠快，抗病能力尤其是对呼吸系统疾病的抵抗力强，自发肿瘤发生率低，对性激素感受好。

4. **豚鼠** 又名荷兰猪、天竺鼠、葵鼠、几内亚猪。属哺乳纲、啮齿目、豚鼠科、豚鼠属。豚鼠来源于南美洲的安第斯山脉。实验动物豚鼠是由野生豚鼠驯化而来，毛色多样，有白色、黑花、沙白等。豚鼠性情温顺，性早熟，抗缺氧能力强，过敏反应灵敏，体温调节能力较差，对环境温度的变化较为敏感。因豚鼠对组胺特别敏感而易被抗原性物质所致敏，常被用来观察平喘药、抗组胺药物以及抗过敏药物的反应和过敏性休克实验研究，为过敏反应实验首选动物。

5. **家兔** 属哺乳纲、啮齿目、兔科、真兔属。繁殖力高，适应性好，抗病力强。家兔性情温顺，便于灌胃、静脉注射、取血等实验操作，可用于直接记录呼吸、血压、心电图、体温等实验研究，常用于观察药物对心脏、肺部的影响以及有机磷农药中毒和解救实验，也可用于药物对中枢神经系统的作用、体温、热原检查以及避孕药实验等。家兔为药品质控中热原检查的指定动物。

6. **猫** 属哺乳纲、食肉目、猫科。猫天生胆怯和谨慎,对陌生人、陌生环境多疑不安。猫对外科手术的耐受性强,血压相对比较稳定,但价格较高,且极具攻击性,常用于去大脑僵直、下丘脑以及血压等方面的实验研究。猫为药品质控中降压物质检查的指定动物。

7. **犬** 属哺乳纲、食肉目、犬科。犬嗅觉、视觉、听觉灵敏,对外界环境适应力强。其血液循环、神经和消化系统均与人类接近。常用于观察药物对心脏泵血功能和血流动力学的影响,降压药和抗休克药的研究。犬还可以通过训练,用于慢性实验研究,如条件反射、胃肠蠕动、分泌实验和中枢神经系统实验等。

### 【实验动物的选择】

在药理学实验中,实验动物的选择是否恰当直接关系到课题质量的高低与实验结果的正确性,是动物实验中首先要考虑的问题。为了获得理想的实验结果,必须根据实验目的选择适宜的观察对象。实验动物的选择应符合下列基本原则:

(1) 选择对刺激因素较为敏感且与人类相似的实验动物,包括结构、代谢、健康状况与疾病特点等方面的相似性。

(2) 根据实验目的、内容等选择相适应的标准化动物。

(3) 选择解剖、生理特点等符合实验要求的动物,即充分利用不同品种、品系动物具有的某些解剖、生理特点及存在的特殊反应。

(4) 在符合实验目的与不影响实验结果的前提下,选择易获得、易饲养与管理的实验动物。

实验动物对人类疾病的表达程度和施加因素的反应情况,除了与动物自身的生理特征有关外,还受动物的状态,如是否饥饿、是否睡眠充足、是否患有其他疾病等因素的影响。另外,环境因素对实验动物也有明显的影响,在实验时应选择与受试动物自然生活尽量一致的实验环境或人为地将实验环境控制到符合条件的程度。

实验动物的选择和应用还需遵循国际上对待动物的“3R”原则:减少(reduction)、优化(refinement)、替代(replacement),并注意符合相应的国际实验室操作规范(good laboratory practice, GLP)和标准操作规程(standard operating procedure, SOP)。

### 【练习题】

1. 过敏反应试验首选动物是\_\_\_\_\_。

A. 豚鼠

B. 小鼠

C. 大鼠

D. 家兔

2. 根据国家标准，将实验动物分为 \_\_\_\_\_ 个等级。

- A. 一                      B. 二                      C. 三                      D. 四

3. 关于小鼠描述不正确的是 \_\_\_\_\_。

- A. 易于繁殖、价格低廉  
B. 对外科手术耐受性强，血压稳定，常用于血压实验  
C. 与人类基因同源性高  
D. 用于药物筛选、毒性实验等

### 【思考题】

（1）实验动物与实验用动物有何区别？

（2）对于动物实验，我们应该如何做才能保证既达到实验目的又最大限度减轻动物的痛苦呢？

### 【知识拓展】

#### 实验的“小白鼠”

提到实验动物，你第一时间想到的是什么呢？大家常说：“不要做实验用的小白鼠哦。”但你真的了解“小白鼠”吗？可供选择的实验动物那么多，科学家为什么偏偏盯上了“小白鼠”呢？小白鼠学名“小鼠”，数量庞大，全世界有1700多种鼠类，分布在世界各地，比人类数量还要多。早在16世纪，已有部分科学家利用小鼠进行科学研究。20世纪初，因孟德尔遗传定律的研究需不同物种进行验证，小鼠成为重要研究对象，1912年美国的哈希·巴格经多代近交培育，获得品系为BALB/c的白化小鼠品系，自此小鼠正式登上实验研究的历史舞台。

（赵春贞）

## 第二节 实验动物的常用技术

### 【实验动物的编号】

在动物实验中，常用多只动物同时进行实验，并对实验动物进行适当的分组，为了便于观察、辨别并记录动物的变化情况，需要在实验前对动物进行编号标记。标记

的方法有很多，良好的标记方法应满足标号清晰、易辨、简便、耐久的要求。常用的标记方法有染色法、烙印法和耳缘剪孔法等。

**1. 染色法** 使用有色染料在动物明显体位被毛上进行涂染，并用不同染色来区分各组动物。这种标记方法在实验室最常用也最方便。常用的染料有 3% ~ 5% 苦味酸溶液（黄色）、0.5% 中性品红（红色）、2% 硝酸银溶液（咖啡色）。标记时用棉签或毛笔蘸取上述溶液，在动物体表的部位涂上斑点，以表示不同号码。编号的原则：先左后右，从上到下。如图 1-2-1 所示，一般把涂在左前腿上的记为 1 号，左侧腰部记为 2 号，左后腿记为 3 号，头顶部记为 4 号，背部正中记为 5 号，尾根部记为 6 号，右前腿记为 7 号，右侧腰部记为 8 号，右后腿记为 9 号。若动物编号超过 10 或者更大数字时，可使用两种颜色不同的溶液，即把一种颜色作为个位数，另一种颜色作为十位数，这种交互使用可编到 99 号。例如品红染色作为十位数，苦味酸染色作为个位数，如图 1-2-1 所示“31 号”。这种标记方法对于实验周期短的动物实验较为合适，时间长了染料易褪色，应及时再次涂染标记。

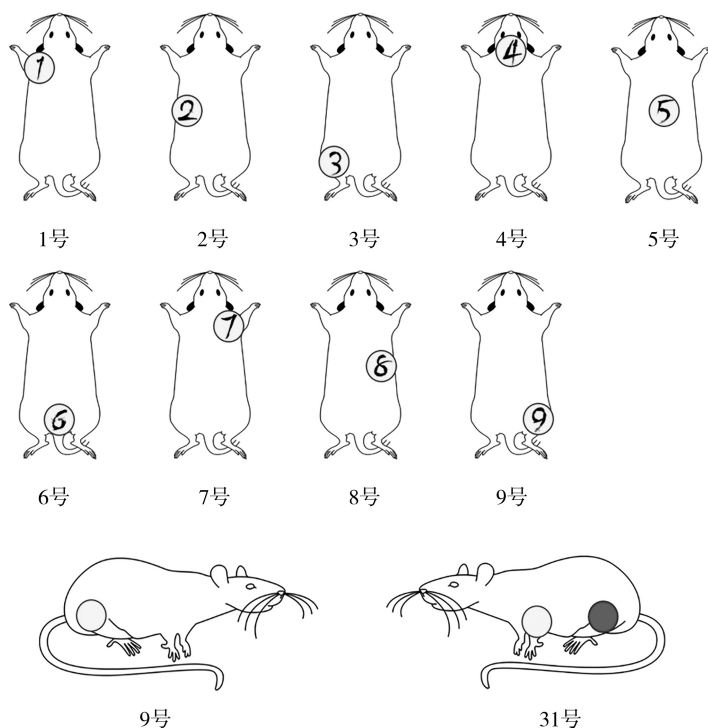


图 1-2-1 小鼠的编号方法

**2. 烙印法** 用刺数钳（又称耳号钳）在动物耳朵上刺上号码，然后用棉签蘸取溶在食醋里的黑墨水涂抹。烙印打号前需用酒精对烙印部位进行消毒，烙印操作宜轻巧、

敏捷。该法适用于耳朵比较大的兔、狗等动物。也可将号码烙印在方形或圆形金属牌上，或将号码按实验分组编号烙在动物的皮带上，将皮带固定在动物颈部。此法也叫号牌法，适用于兔、猫、狗等较大的动物。

3. **耳缘剪孔法** 用打孔器在动物耳的一定位置打孔编号，根据打孔的位置和孔的数量来区别实验动物的方法（也称打孔法）。也可用剪刀剪缺口，注意应在剪后用滑石粉捻一下，以免剪口闭合（也称剪缺口法）。

4. **针刺法** 去除动物被毛，用针头蘸取少量碳素墨水，在动物的耳部、前后肢或尾部等刺入皮下组织，在受刺部位留下黑色标记。

5. **被毛法** 用剪毛刀在动物身体一侧或背部剪除所标记号码形状的被毛，适用于大、中型的实验动物，如兔、狗等。此法标记清楚可靠，仅限于短期观察使用。

### 【实验动物的捉拿与固定】

1. **蟾蜍** 通常以左手握持，用食指和中指夹住前肢，将下肢拉直，用无名指及小指夹住下肢，同时用拇指按压背部。

2. **小鼠** 右手提起尾部，放在鼠笼盖或者其他粗糙面上，向后上方轻拉，此时小鼠前肢紧紧抓住粗糙面，迅速用左手拇指和食指捏住小鼠颈背部皮肤并用小指和手掌尺侧夹持其尾根部固定手中。也可仅用单手操作，先用拇指和食指抓住小鼠尾部，再用手掌尺侧及小指夹住尾根部，然后用拇指及食指捏住其颈部皮肤。

3. **大鼠** 大鼠易被激怒伤人，捉持时左手应戴防护手套或用厚布盖住大鼠。左手的拇指和中指从大鼠背部绕到腋下抓住大鼠。此时若用右手，可把食指放在右前肢的前方，与中指夹住右前肢则易于捉持。对于1~2周龄或体积较小的大鼠可轻轻捏住背部皮肤抓起，抓住其整个身体并固定其头部以防咬伤。

4. **家兔** 捉拿时一手抓住其颈背部皮肤，轻轻将家兔提起，另一手托住其臀部，使家兔呈坐位姿势。

5. **豚鼠** 豚鼠性情温顺，可用左手直接从背侧握持前部躯干，体重小者用单手捉持，体重大者宜用双手，右手托住臀部。也可用固定器固定豚鼠或将豚鼠四肢固定在木板上。

6. **猫** 若猫较为温顺，可用一只手抓住猫的颈部皮肤，另一只手托起四肢抱起。对于较凶的猫，将手慢慢伸入笼内，轻抚猫的背、头、颈部，一只手抓住猫的颈部，出笼后，另一只手抓住从背到腰部的皮肤。若猫对手接触其皮肤出现明显抵触时，可戴皮手套捉拿。

7. **犬** 对于未经驯服的犬，用捕犬叉夹住犬颈将其按倒，以绳索捆扎犬嘴。绑嘴时，

绳带先从嘴角绕到鼻上方打一结，再将绳带绕到嘴下方打一结，然后将绳带拉到耳后颈部打结固定，方可给药。对于驯养的犬，可先对其轻抚，逐渐接近动物，给狗戴好嘴罩固定，分别把狗的四肢用带子捆绑好。

## 【实验动物的麻醉】

在一些动物实验中，特别是动物手术等试验，为便于操作，常需对动物采取必要的措施。动物麻醉可选择全身麻醉和局部麻醉，不同的麻醉方式，选择的药物也不同。

### 1. 常用的麻醉药

1) 局部麻醉药 普鲁卡因、利多卡因等，起效快，常用于局部浸润麻醉。

#### 2) 全身麻醉药

(1) 乙醚：乙醚吸入麻醉适用于各种动物，其优点为麻醉作用剂量和致死量差距大，所以安全性也大，动物麻醉深度容易掌握，麻醉后容易苏醒。缺点是局部刺激大，可使得上呼吸道黏液分泌增加，通过神经反射可影响呼吸、血压和心跳活动，且易引起窒息。

(2) 戊巴比妥钠：常用 1% ~ 3% 戊巴比妥钠生理盐水溶液，一次给药麻醉有效时间可延续 3 ~ 5 h。麻醉使用方便，麻醉过程较平稳，动物无明显挣扎现象，缺点是苏醒较慢。

(3) 硫喷妥钠：常用浓度为 1% ~ 5%。此药注射后，可迅速进入脑组织，故麻醉诱导快，但苏醒也很快，一次给药的麻醉时效仅维持 0.5 ~ 1 h。

### 2. 麻醉方法

#### 1) 全身麻醉

(1) 吸入麻醉法：麻醉药以蒸气或者气体状态经呼吸道吸入而产生麻醉，常用乙醚，可用于大鼠、小鼠、家兔的麻醉。具体方法：将动物放入玻璃麻醉箱内，把装有浸润乙醚棉球的小烧杯放入麻醉箱。

(2) 腹腔注射和静脉给药麻醉法：常用的麻醉药有戊巴比妥钠、硫喷妥钠等。采用腹腔注射和静脉注射进行麻醉，操作简单，是实验室最常用的方法之一。腹腔给药麻醉多用于大鼠、小鼠和豚鼠，较大的动物如兔、狗等则多用静脉给药麻醉。

#### 2) 局部麻醉

用局部麻醉药阻滞周围神经末梢或神经干、神经节、神经丛的冲动传导，产生局部麻醉作用，其特点是动物保持清醒，对重要器官功能干扰轻微，麻醉并发症少。猫的局部麻醉一般注射 0.5% ~ 1.0% 盐酸普鲁卡因溶液；家兔进行眼球手术时，可于结膜囊滴入 0.02% 盐酸可卡因溶液，数秒钟即可出现麻醉。

## 【实验动物的给药】

1. **腹腔注射** 用小鼠进行实验时，左手固定动物，使腹部向上，头呈低位使内脏移向上腹，右手将注射针于右（左）下腹刺入皮肤，并以  $45^\circ$  角穿过腹肌，在此处保持针尖不动的状态下，回抽针栓，如无回血或尿液，缓慢注入药液。若实验动物为家兔，进针部位为下腹部腹白线旁开 1 cm 为宜。

2. **灌胃给药** 适用于小鼠、大鼠、豚鼠、家兔等动物。以小鼠为例，左手抓住颈背部皮肤将动物固定，右手持灌胃针插入动物口中，沿咽后壁徐徐插入食管。动物应固定成垂直体位，针插入时应无阻力，若感到阻力或动物挣扎时，应立即停止进针或将针拔出，以免损伤或穿破食管甚至误入气管。小鼠常用的灌胃量为 0.2 ~ 1 mL，大鼠为 1 ~ 4 mL，豚鼠为 1 ~ 5 mL。

### 3. 静脉注射

（1）尾静脉注射：小鼠和大鼠一般采用尾静脉注射。注射时将动物固定在尾静脉注射装置内或者固定在鼠筒内，使尾巴露出，尾部用  $45 \sim 50^\circ\text{C}$  的温水浸润半分钟或者用 75% 的乙醇溶液擦拭，使血管扩张、表皮角质软化。以左手拇指和食指捏住鼠尾两侧，使静脉充盈，用中指从下面托起尾巴，以无名指和小指夹住尾巴的末梢，右手持针使针头与尾静脉平行（小于  $30^\circ$ ），从尾下 1/4 处（距尾尖 2 ~ 3 cm）进针。先缓慢注入少量药液，如无阻力，可继续注入至完毕。

（2）耳缘静脉注射：家兔一般采用耳缘静脉注射。将家兔放入固定盒内，首先拔去耳缘静脉注射部位的被毛，用手指弹动或轻揉耳，使静脉充盈。左手食指和中指夹住静脉近端，拇指绷紧静脉远端，无名指及小指垫在下面，右手持注射器从远端刺入血管，并沿血管平行方向深入，移动手指于针头上以固定针头，放开食指和中指，将药液注入，然后拔出针头，用棉球压迫针孔片刻即可。

4. **肌肉注射** 多选择肌肉发达、无大血管神经通过的部位，一般多选臀部。注射时垂直刺入肌肉，回抽针栓如无回血，即可进行注射。给大鼠、小鼠等小动物进行肌肉注射，可将药液注入后腿上部外侧肌肉。

5. **皮下注射** 注射时以左手拇指和食指提起皮肤，将注射器针头刺入皮下，缓慢注入药液，拔出针头后，用手指轻压注射部位，以防药液漏出。不同实验动物注射部位有所不同，小鼠通常在背部，犬、猫多在大腿外侧。

6. **颅内注射** 用于观察作用于大脑病变部位的药物作用。针对小动物如需精确进针位置和深度，可采用脑立体定位仪进行辅助注射。小鼠、大鼠、豚鼠、兔等进行颅内注射时，须先用穿颅钢针穿透颅骨，再用注射器针头刺入脑部。

## 【实验标本的采集】

1. **尾静脉取血** 主要用于需血量很少的大鼠或小鼠实验。固定动物并露出鼠尾，用45 ~ 50℃温水浸泡或用二甲苯擦拭鼠尾使血管扩张充血，用手术刀片切开尾静脉，血液即自行流出。也可采用剪除尾尖法（剪去尾尖3 ~ 5 mm）取血。

2. **球后静脉丛取血** 取血时左手捏住鼠两耳间的颈背部，头皮轻轻向下压迫背部两侧，以阻断头部静脉回流而使眼球外凸。右手持毛细采血管（0.5 ~ 1 mm），从眼睑与眼球插入，使毛细管与眶壁平行地向喉头方向推进4 ~ 5 mm，即达到球后静脉丛，血液会自行流入管内。小鼠每次可采血0.2 ~ 0.3 mL，大鼠每次可采血0.4 ~ 0.6 mL，此法可连续取血多次。

3. **眼眶静脉取血** 将鼠倒持压迫眼球，使其充血后突出，用止血钳迅速摘除眼球后，眼眶内很快有血液流出，将血液滴入有抗凝剂的试管里即可。

4. **心脏取血** 主要用于家兔、犬等较大动物。将动物仰卧固定在手术台上，剪去心前区的毛，用75%的乙醇溶液消毒皮肤，用左手触摸胸骨左缘第3、4肋间隙，选心脏跳动最明显处作穿刺点。右手持注射器，将针头刺入心脏，随心脏的搏动血液自动进入注射器。

5. **耳缘静脉取血** 多用于家兔取血。取血部位局部用手轻弹耳廓或涂二甲苯，使血管扩张，后用乙醇擦净，再用粗针头刺入耳缘静脉取血。

6. **断头取血** 主要用于大鼠、小鼠的大量采血。左手固定动物，并使头略向下倾，右手用剪刀迅速剪掉动物头部，让血液快速滴入试管内（含抗凝剂）。

## 【实验动物的处死】

根据动物伦理学规定，当实验中途停止或结束时，应对实验动物实施安乐死。实验动物安乐死方法的选择取决于动物的种类与研究的课题，为尽可能减少实验动物的痛苦和恐惧，推荐对实验动物麻醉后再处死。

1. **蟾蜍** 用刺蛙针插入枕骨大孔，破坏脑、脊髓等方法处死，或者用粗剪刀剪断头处死。

2. **大鼠和小鼠** ①颈椎脱臼法：右手抓住鼠尾用力向后上拉，同时左手拇指与食指用力向下按住鼠头，将脑与脊髓断离，鼠立刻死亡，这是小鼠最常用的处死方法。②断头法：持剪刀于鼠颈部将鼠头剪掉。③击打法：右手抓住鼠尾，提起，用力摔击其头部，鼠痉挛后立即死亡；或小木槌用力击打鼠头部也可致死。④急性失血法：可采用鼠眼眶动脉和静脉急性大量失血方法使鼠立刻死亡。

3. 犬、猫、兔、豚鼠 ①空气栓塞法：向动物静脉内注入一定量的空气，使之发生栓塞而死。②急性失血法：先使动物麻醉，暴露股三角区或腹腔，再切断股动脉或腹主动脉，立刻喷出血液，用自来水不断冲洗流血，3 ~ 5 min 即可死亡。③击打法：对家兔用木槌用力击打其后脑部，损伤延脑，造成死亡。④开放气胸法：将动物开胸，造成开放性气胸，使动物窒息而死。

### 【练习题】

1. 实验动物编号最常用的方法是 \_\_\_\_。  
A. 染色法                  B. 号牌法                  C. 烙印法                  D. 被毛法
2. 大鼠处死常用的方法不包括 \_\_\_\_。  
A. 急性失血法              B. 击打法                  C. 断头法                  D. 破坏脊髓
3. 小鼠少量取血可选择 \_\_\_\_。  
A. 断头取血                  B. 尾静脉取血              C. 心脏取血                  D. 股动脉取血

### 【思考题】

动物实验前需进行哪些准备？

### 【知识拓展】

#### 克隆小鼠“小小”

2009 年中国科学家首次利用 iPS 细胞成功克隆出活体小鼠“小小”，这只小鼠的诞生，向世界宣告中国人的智慧，并延续克隆羊“多利”的传奇，该成果发表在 *Nature* 杂志上。iPS 细胞全称为诱导性多功能干细胞，是由体细胞诱导而成的干细胞，具有和胚胎干细胞类似的发育多潜能性。iPS 细胞具有和胚胎干细胞类似的功能，绕开了胚胎干细胞研究面临的伦理和法律等诸多屏障，医疗领域应用前景非常广阔，但因此前未能培育出完全由 iPS 细胞发育而来的活体哺乳动物，其全能性一直受到怀疑。中国科学家克隆小鼠“小小”，在世界上首次证明了 iPS 细胞与胚胎干细胞一样具有全能性，该研究成果是从干细胞研究迈向实际医疗过程的一大步，对于细胞全能性机理研究、器官移植、药物筛选、基因治疗等临床应用研究有重要价值。这一成果受到国际干细胞研究界的高度重视，*Nature* 杂志网站称赞中国科学家“为克隆成年哺乳动物开辟了一条全新道路”。

( 赵春贞 )

### 第三节 实验动物伦理

#### 【实验动物福利与保障】

实验动物伦理是从道德层面审视实验动物是否以及如何获得道德对待和道德关怀,并约束和规范人类对实验动物的使用行为。实验动物也是动物的一分子,因而从广义上讲,实验动物福利也属于动物保护主义的一部分。动物保护主义于20世纪60年代在西方首先兴起,动物伦理的研究也日益兴盛。近年来关于动物保护主义的多种观点逐渐浮现,但有些理论过于偏激或极端。因此,我们需结合中国实际国情,正确认识实验动物伦理,这关系到我国生命科学和医学的发展。

动物福利指人类采取各种措施避免对动物造成不必要的损害,防止虐待动物,使动物在健康舒适的状态下生存。按照国际上公认的说法,动物福利的主要内容包括五大理念(“5F”):享有不受饥渴的自由,享有生活舒适的自由,享有不受痛苦,伤害和疾病的自由,享有生活无恐惧和无悲伤的自由,享有表达天性的自由。

实验动物福利并不意味着就是绝对地保护实验动物不受任何伤害,而是在兼顾科学问题探索和在可能的基础上最大限度地满足实验动物维持生命、维持健康和提高舒适程度的需要。研究实验动物生活环境条件、实验动物“内心感受”、人道的实验技术等是科学的实验动物福利的主要内容。我们在进行与实验动物相关的活动时,要本着为科学服务的目的尽可能地减少给实验动物带来的伤害。

目前,实验动物福利问题已引起世界各国和国际组织的广泛重视。现在凡涉及动物实验的科研论文发表或者申报科学研究课题,必须出示由“动物伦理委员会”提供的证明,确保该动物实验研究符合动物福利准则。

#### 【实验动物伦理的基本要求】

为了解决生命伦理学与动物实验的冲突,我们需遵守动物福利的“3R”原则和五大理念(“5F”)。

“3R”原则指:①“减少”(reduction):尽可能地减少实验中所用动物的数量,提高实验动物的利用率和实验的精确度;②“优化”(refinement):改善实验条件,减少动物的精神紧张和痛苦;③“替代”(replacement):不使用活体动物进行实验,而以单细胞生物、微生物或细胞或其他非动物模型进行替代。

动物福利的五大理念为:①享有不受饥渴的自由(freedom from hunger and thirst,

生理福利)；②享有生活舒适的自由(freedom from discomfort, 环境福利)；③享有不受痛苦、伤害和疾病的自由(freedom from pain, injury and disease, 卫生福利)；④享有生活无恐惧和无悲伤的自由(freedom from fear and distress, 行为福利)；⑤享有表达天性的自由(freedom to express normal behavior, 心理福利)。

动物福利既保证了动物的生存状态，又保护了动物权利的存在。动物福利论主张在动物使用过程中遵守“3R”原则和“5F”理念，明确要求禁止肆意杀害动物、禁止肆意虐待动物，对人类行为加以约束，使动物得到充分的保护，免遭痛苦。

### 【练习题】

1. 实验动物伦理的“3R”原则不包括 \_\_\_\_。  
A. 保护                      B. 减少                      C. 优化                      D. 替代
2. 实验动物伦理的“5F”理念不包括 \_\_\_\_。  
A. 不受饥渴的自由                      B. 不受屠戮的自由  
C. 生活舒适的自由                      D. 表达天性的自由
3. 关于动物福利说法不正确的是 \_\_\_\_。  
A. 满足动物维持生命的需要                      B. 绝对保护动物不受伤害  
C. 动物福利受各国关注                      D. 尊重动物“内心感受”

### 【思考题】

- (1) 如何理解“安乐死”？
- (2) 你认为什么样的动物应予以保护？

### 【知识拓展】

#### 致敬“无名英雄”

每年的4月24日被定为“世界实验动物日”，是由英国反活体解剖协会(NAVS)于1979年发起的，受联合国认可的国际性纪念日，其前后一周则被称为“实验动物周”。世界实验动物日的设立旨在倡导科学、人道地开展动物实验，铭记实验动物为人类健康事业所作出的巨大贡献和牺牲，规范和合理地使用实验动物。

(成 敏)

## 第四节 磺胺嘧啶血浆半衰期的测定

### 【实验目的】

- (1) 学习磺胺嘧啶血药浓度和血浆半衰期的测定及计算方法。
- (2) 掌握药代动力学的计算方法及临床意义。

### 【实验原理】

血浆半衰期 (half-life,  $t_{1/2}$ ) 指血浆药物浓度下降一半所需要的时间, 以  $t_{1/2}$  表示。临床常用药物中多数药物在体内按一级动力学消除, 血药浓度与瞬时药物浓度成正比, 即单位时间内药物浓度按照恒定比例消除, 其血药浓度 (对数值) - 时间曲线为直线。按照零级动力学消除的药物, 其血药浓度 (对数值) - 时间曲线为抛物线, 属于非线性动力学消除; 零级消除动力学是由体内消除药物的能力达到饱和所致, 血药浓度 - 时间曲线为直线。

磺胺嘧啶 (sulfadiazine, SD) 为对氨基苯类化合物, 在酸性环境下可使苯环上的氨基 (-NH<sub>2</sub>) 离子化生成铵类化合物 (-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 可与亚硝酸钠起重氮反应, 生成重氮盐 (-N≡N<sup>+</sup>)。此重氮盐在碱性溶液中与酚类化合物 (如麝香草酚) 起偶联反应, 生成橙红色的偶氮化合物 (图 1-4-1)。偶氮化合物的显色深浅与磺胺嘧啶的浓度有关。采用分光光度计测定光密度, 与标准品光密度比较, 可对磺胺嘧啶的药物浓度进行定量分析。根据用药后不同时间血浆药物浓度的变化规律, 可计算血浆半衰期等药代动力学参数。

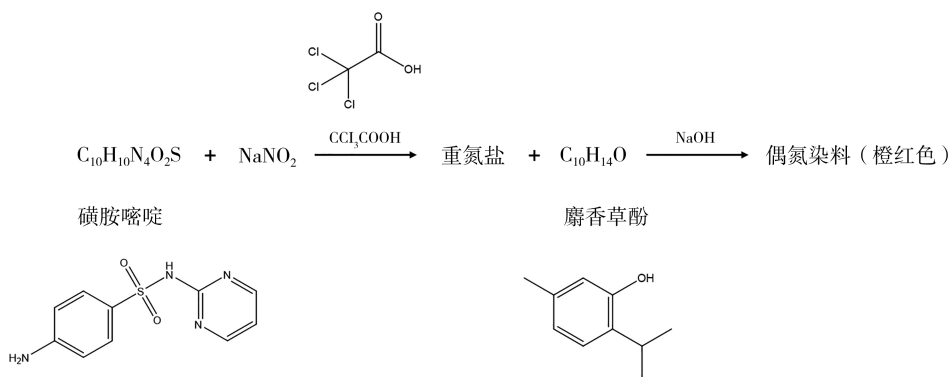


图 1-4-1 磺胺嘧啶显色原理示意图

### 【实验器材】

721 分光光度计、离心机、兔固定器、手术器械一套、试管、离心管、烧杯、磅秤、注射器（1 mL、5 mL、10 mL）、移液枪、吸头、试管架、卫生纸、棉球、塑料盆。

### 【实验动物】

家兔，体重 2.0 ~ 3.0 kg，雌雄不拘。

### 【实验药品】

20% 磺胺嘧啶溶液、0.5% 肝素生理盐水、0.5% 亚硝酸钠溶液、0.02% 磺胺嘧啶钠标准液、7.5% 三氯乙酸溶液、0.5% 麝香草酚溶液（用 20% 氢氧化钠溶液配制）。

### 【实验方法】

实验操作步骤如下，见图 1-4-2。

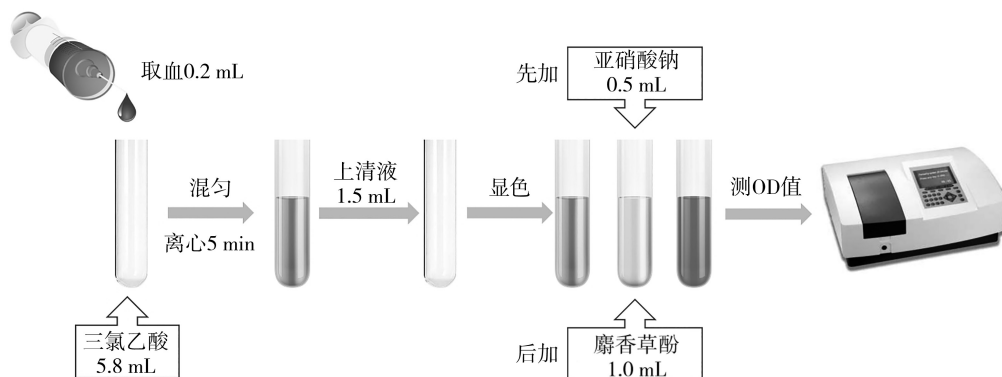


图 1-4-2 操作步骤示意图

- 1. 实验准备** 取试管 3 支，标记 A、B、C，各加入 7.5% 三氯乙酸溶液 5.8 mL。取另外 3 支试管，同样标记 A、B、C，备用。
- 2. 给药前取血** 取家兔 1 只，称重并记录体重，根据体重计算给药剂量，取药备用。取 1 mL 注射器 1 支，用 0.5% 肝素生理盐水润洗后，由家兔一侧耳缘静脉取血 0.2 mL，保留针头、取下注射器，将血液注入 A 管，摇匀备用。
- 3. 给药** 家兔第一次取血完成后，立即换上另一注射器（5 mL）自原针头注入 20% 的磺胺嘧啶溶液 2 mL/kg（根据给药剂量计算相应的给药体积）。记录注射完成的时间。

4. 给药后取血 在给药完成后 5 min 及 35 min，采用同样的方法自另外一侧的耳缘静脉各取血 0.2 mL，分别注入 B 管、C 管。准确记录取到血液样本的时间，计算两次取血的时间差。

5. 显色 将 A、B、C 3 支试管摇匀，以 1500 r/min 转速离心 5 min，用移液枪取离心后上清液 1.5 mL，加入对应标记的试管中，依次加入 0.5% 亚硝酸钠溶液 0.5 mL、0.5% 麝香草酚溶液 1.0 mL，混匀。

6. 比色 以给药前的样品管（A 管）调零点，校准。将反应后各管内溶液分别置于 721 分光光度计的 1.0 mL 比色杯内，在波长 525 nm 处比色，测出各样品管和标准管的光密度值。

7. 计算血药浓度 根据同一溶液浓度与光密度成正比的原理，可用无血液的标准管的浓度及其光密度值求出某一时间点血液中磺胺嘧啶的浓度。公式如下：

样品管浓度 / 标准管浓度 = 样品管光密度 / 标准管光密度

即  $C_{测} = OD_{测} / OD_{标} \times C_{标}$

8. 计算血浆半衰期（ $t_{1/2}$ ） 一室模型半衰期计算公式为：

$t_{1/2} / T = \log(1/2) / \log R_T$

式中 T 为间隔时间； $R_T$  为 T 时间段代谢后药物在体内的留存率（给药后两次取血的药物浓度比值），在本实验中为 35 min 对应的血药浓度与 5 min 对应的血药浓度的比值，可用  $OD_C / OD_B$  代替。

【实验记录与结果】

记录实验结果，根据公式计算出用药后 5 min 和用药后 35 min 时磺胺嘧啶的血药浓度、 $t_{1/2}$ 。具体见表 1-4-1。

表 1-4-1 磺胺嘧啶血药浓度和血浆半衰期测定

| 取样时间       | 血样 ( mL )   | 三氯<br>乙酸<br>( mL ) | 上清液<br>( mL ) | NaNO <sub>2</sub><br>( mL ) | 麝香<br>草酚<br>( mL ) | 光密度<br>值 ( A ) | 浓度<br>( mg/mL ) |
|------------|-------------|--------------------|---------------|-----------------------------|--------------------|----------------|-----------------|
| 给药前        | 0.2         | 5.8                | 1.5           | 0.5                         | 1.0                |                |                 |
| 给药后 5 min  | 0.2         | 5.8                | 离             | 1.5                         | 0.5                | 1.0            |                 |
| 给药后 35 min | 0.2         | 5.8                | 心             | 1.5                         | 0.5                | 1.0            |                 |
| 标准品        | ( 标准液 ) 0.2 | 5.8                | 1.5           | 0.5                         | 1.0                |                |                 |

**【注意事项】**

- (1) 取血液样本前注射器一定要用肝素生理盐水润洗。
- (2) 取血时每吸取一个血样，必须更换注射器，不能混用。
- (3) 各管每次加一种试剂后都必须充分混匀，加样顺序不能颠倒。
- (4) 各吸量管注意分开使用，比色杯要清洗干净，吸取药液要准确。
- (5) 离心时要注意离心管的配平。
- (6) 采血也可采用心脏取血法。

**【练习题】**

1. 耳缘静脉取血应从 \_\_\_\_\_ 开始取血。  
A. 近心端                      B. 远心端                      C. 任何位置                      D. 耳背内缘
2. 有关一级消除动力学描述正确的是 \_\_\_\_\_。  
A. 药物半衰期并非恒定值  
B. 其消除速率表示单位时间内消除实际百分比  
C. 其消除速率与体内药物量成正比  
D. 为小部分药物的消除方式
3. 有关离心机的操作描述错误的是 \_\_\_\_\_。  
A. 使用前预热 5 ~ 10 min  
B. 离心管放置的位置必须相邻，不宜距离太远  
C. 离心管不宜装得太满  
D. 禁止超载

**【思考题】**

- (1) 药物的血浆半衰期是固定不变的吗？对临床用药有何指导意义？
- (2) 不同个体磺胺嘧啶的半衰期不同，除个体差异外还受什么因素影响？

**【知识拓展】****“磺胺”药物的发现**

磺胺嘧啶是一种磺胺染料，1932年由德国生物化学家格哈德·多马克 (Gerhard Domagk) 发现，是世界上第一个商用的抗菌化学治疗剂。最初叫“百浪多息”，

是一种工业染料，因被发现其中包含一些具有消毒作用的成分，曾被用于治疗丹毒等。然而，在实验中发现其在试管中却没有明显的杀菌作用，因而没有引起医学界的重视。多马克最早的患者是他年仅6岁的女儿，因不慎用未消毒的针刺伤造成感染，病情恶化，医生已经开始考虑截肢。绝望的多马克给女儿使用了百浪多息，这种药物还没有完成临床试验，幸运的是其女儿在2天后痊愈出院。多马克因发现百浪多息的抗菌作用获得了诺贝尔生理学或医学奖。研究发现，百浪多息只有在体内才能杀死链球菌，而在试管内则不能。它可以裂解为氨苯磺胺，将“磺胺”进行动物实验发现与百浪多息相同，磺胺的名字迅即在医学界广泛传播。

（赵春贞）

## 第五节 普鲁卡因半数致死量测定

### 【实验目的】

序贯法测定普鲁卡因的半数致死量。

### 【实验原理】

能引起50%的实验动物出现阳性反应时的药物剂量，若效应为死亡，则称为半数致死量（median lethal dose,  $LD_{50}$ ）。 $LD_{50}$ 是衡量药物毒性大小的指标之一，是申报新药过程中必须提供的药理学资料。半数有效量（median effective dose,  $ED_{50}$ ）指在量反应中能引起50%最大反应强度的药量。 $LD_{50}$ 和 $ED_{50}$ 的比值称为治疗指数（therapeutic index, TI），用来评价药物的安全性。一般而言，治疗指数大的药物相对治疗指数小的药物安全，但并不完全可靠。

普鲁卡因（procaine）是一种局麻药，分子结构见图1-5-1，能暂时阻断神经纤维的传导而具有麻醉作用。当被大量吸收后会产生全身毒性反应，主要表现为中枢神经系统先兴奋后抑制，初期表现为眩晕、烦躁不安、肌肉震颤，进而发展为神经错乱、惊厥、昏迷、呼吸抑制等。患者可因呼吸衰竭而死亡。

$LD_{50}$ 的测定方法很多，如加权机率单位法（Bliss法）、寇氏法、序贯法等。Bliss法是目前推荐使用的方法，此法对剂量分组无严格要求，不需要剂量组有0%和100%死亡率，是目前公认最准确的测定方法。但本法计算烦琐，故现多采用计算机程序计算。我国卫生健康委员会规定，Bliss法是新药 $LD_{50}$ 测定必须采用的方法。

序贯法又称序贯设计法或序贯检验法，是一种逐一进行试验、逐一进行分析的试验测定法。此法优点是节约受试动物，且易于观察实验结果，适用于用药后反应比较快的药物实验。

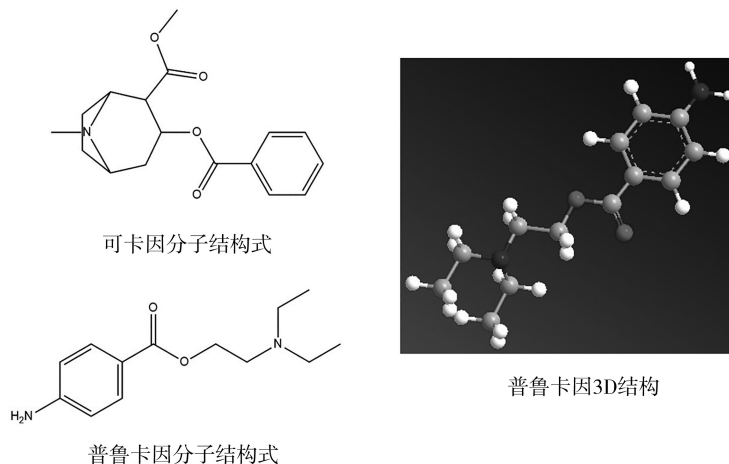


图 1-5-1 普鲁卡因与可卡因的分子结构

### 【实验器材】

注射器、电子天平、鼠笼、函数型计算器。

### 【实验动物】

小鼠（18 ~ 22 g），雌雄各半。

### 【实验药品】

2% 普鲁卡因溶液、2% 苦味酸溶液。

### 【实验方法】

1. 确定给药剂量 实验前预先拟定好药物剂量，相邻两剂量按照等比排列（对数差相等），如图 1-5-2 所示。

2. 抓取小鼠 每实验组取小鼠 10 只，雌雄各半。小鼠称重后，用苦味酸标记。

3. 给药与结果记录 先取小鼠 1 只，腹腔注射第一个剂量 2% 的普鲁卡因 0.1 mL/10 g，若出现死亡，下一只动物则用低一个剂量；若未出现死亡，下一只动物则用高一个剂量。将结果记录到表格中，动物死亡用“+”表示，未死亡用“-”表示。若在同一

剂量中连续出现“-”两次，则下一次实验结束，最后一只动物不做实验，但需要在表格中标记“E”。

| 剂量<br>(mg/kg) | LogD  | 动物状态（死亡“+”或未死亡“-”） |   |   |   |   |   |   |   |   |    | R | R·logD |
|---------------|-------|--------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|---|--------|
|               |       | 1                  | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |   |        |
| 125           | 2.097 | +                  |   |   |   |   |   |   |   |   |    | 1 | 2.097  |
| 87.5          | 1.942 |                    | + |   | + |   |   |   |   |   |    | 2 | 3.884  |
| 61.3          | 1.787 |                    |   | - |   | + |   | + |   | E |    | 4 | 7.148  |
| 42.9          | 1.632 |                    |   |   |   |   | - |   | - |   |    | 2 | 3.264  |
| 合计            |       |                    |   |   |   |   |   |   |   |   |    | 9 | 16.363 |

图 1-5-2  小鼠腹腔注射戊四氮的实验结果实例

4. 实验结果计算

$LD_{50} = \log^{-1} (C/N) \text{ mg/kg}$

式中：C=∑（R · logD）；  
R= 剂量组的动物数；  
LogD= 剂量 D 的对数值；  
N= 实验动物总数 =∑R。

【实验记录与结果】

实验结果记录表如表 1-5-1 所示。

表 1-5-1  小鼠腹腔注射普鲁卡因半数致死量实验结果

| 剂量<br>(mg/kg) | LogD  | 动物状态（死亡“+”或未死亡“-”） |   |   |   |   |   |   |   |   |    | R | R·logD |
|---------------|-------|--------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|---|--------|
|               |       | 1                  | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |   |        |
| 222           | 2.347 |                    |   |   |   |   |   |   |   |   |    |   |        |
| 200           | 2.301 |                    |   |   |   |   |   |   |   |   |    |   |        |
| 180           | 2.255 |                    |   |   |   |   |   |   |   |   |    |   |        |
| 162           | 2.209 |                    |   |   |   |   |   |   |   |   |    |   |        |
| 145.8         | 2.163 |                    |   |   |   |   |   |   |   |   |    |   |        |
| 合计            |       |                    |   |   |   |   |   |   |   |   |    |   |        |

【注意事项】

- （1）本实验为定量实验，注射剂量必须准确。
- （2）给药后应仔细观察动物的反应，不能过多翻动小鼠，以免影响实验结果。
- （3）因为体重对本药的死亡率影响较大，因此每组动物的体重分布应该一致。

**【练习题】**

1. 关于小鼠腹腔注射，下列说法不正确的是\_\_\_\_\_。
  - A. 腹腔注射时动物头部向下不宜刺到内脏
  - B. 腹腔注射给药前要先排空注射器内的气泡
  - C. 注射针头应贴紧皮肤，尽量平行扎入
  - D. 当针尖穿过腹肌进入腹膜腔后抵抗感消失
2.  $LD_{50}$  与毒性评价的关系是\_\_\_\_\_。
  - A.  $LD_{50}$  与毒性大小成正比
  - B.  $LD_{50}$  与染毒剂量成正比
  - C.  $LD_{50}$  与毒性大小成反比
  - D.  $LD_{50}$  与急性阈剂量成反比
3.  $LD_{50}$  测定最准确的方法是\_\_\_\_\_。
  - A. 寇氏法
  - B. Bliss 法
  - C. 序贯法
  - D. 累计法

**【思考题】**

- (1)  $LD_{50}$  测定的意义是什么？
- (2) 在药物的安全性评价中，除了  $LD_{50}$  还需考虑哪些毒性指标？

**【知识拓展】****普鲁卡因的经典“改造”历程**

如果你去看过牙医，那十有八九用过普鲁卡因，一种局部麻醉药，而它的“亲戚”，则是“毒”名在外的可卡因。

可卡因，一种从南美古柯树叶中分离出来的一种生物碱，是最早使用的局部麻醉剂，于1884年用于临床。局麻效果非常有效，但毒性较大，易使人上瘾，甚至死亡。可卡因的化学结构是一种复杂的双环，1905年，德国慕尼黑大学的化学教授艾因霍恩（Alfred Einhorn）简化了可卡因的结构，合成出了只保留一个环且麻醉效果更好的化合物——普鲁卡因，而且它没有成瘾性、不会被滥用。这也是第一种可注射的局部麻醉剂。由此人们认识到，天然产物的复杂结构可以被简化，作用不变甚至会更好，新药的研发途径多了一条——简化天然产物结构。这是从天然化合物出发设计和发现新药的经典例子之一。

（赵春贞）