

## 双曲线型时反应量-效关系的数学模型

汪萌芽、孙瑞元 (皖南医学院定量药理研究室, 芜湖 241000)

**提要** 针对双曲线型时反应量-效关系的曲线特征, 提出了新的经验模型, 通过肝素抗凝、凝血酶促凝及阿托品 ip 致小鼠死亡共 16 系列实验, 进行了非线性和直线化分析, 证明双曲线型四参数模型  $y = c^{s+1}/(|x-a|)^s + b$  或  $y = c^{s+1}/(\ln|x-a|)^s + b$  为 9 种模型中的最佳模型, 通常用的直线化模型有明显的局限性。

**关键词** 药效学; 剂量-效应关系; 数学模型; 肝素; 凝血酶; 阿托品

剂量、时间、效应三维系统对药物作用进行广义量-效关系的研究中, 剂量与时间强度构成二维的时反应量-效关系 (timed dose-response relationship, TDRR)<sup>(1)</sup>。一般认为 TDRR 的数学模型是反应/剂量的  $\log/\log$  或倒数/ $\log$  转换呈直线关系<sup>(2)</sup>。近来虽有多种模型使用, 仍是经验性的、缺乏完整的统计检验及曲线特征的全面考虑<sup>(1)</sup>。系统研究未见报道。本文旨在对双曲线型 TDRR 的分析和模型的筛选, 找出概括性较强的模型, 为 TDRR 研究提供可靠的定量分析手段。

**双曲线型模型的数学基础** 分析肝素-凝血酶时间  $TT^{(3)}$ 、肝素-血浆复钙时间  $RT$ , 凝血酶- $TT^{(4)}$  及 Clark 提出的强心甙浓度与蛙心停止收缩时间成反比关系的图解等 TDRR 资料, 结合专业知识和实验原理, 发现它们与双曲线<sup>(5)</sup>极为相似, 称双曲线型 TDRR<sup>(1)</sup>, 特征是有  $x=a$ ,  $y=b$  两条渐近线, 其中肝素-凝血酶时间型为 H 型, 凝血酶- $TT$  型为 T 型(图 1 A, B) 故拟  $y = c^{s+1}/(|x-a|)^s + b$  为模型 I, T 型:  $y = c^{s+1}/(x-a)^s + b$ , H 型:  $y = c^{s+1}/(a-x)^s + b$ , 称双曲线型四参数模型, 剂量取对数即模型 II。四个参数的意义: 剂量参数  $a$ , 是

观察的反应不出现或不消失的临界剂量, 使曲线水平移动; 反应参数  $b$ , 使曲线垂直移动; 曲度参数  $c$ , 与曲线顶点处的曲率半径成正比, 反映了药物作用时间强度的可测范围(图 1 A); 偏度参数  $s$ , 决定曲线向两渐近线的偏移(图 1 B), 反映曲线偏度, 实际意义是剂量变化时反应的灵敏度(直线化- $s$  即为回归系数)。直线化式  $\log(y-b) = (s+1) \log c - s \log(|x-a|)$ 。

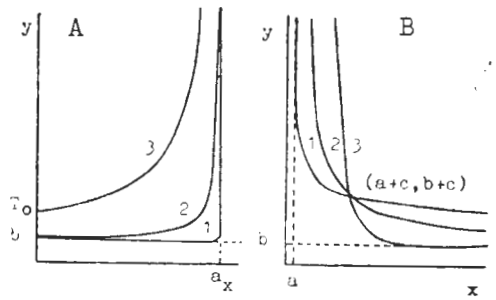


Fig 1. Effects of  $c$  and  $s$  of  $y = c^{s+1}/(|x-a|)^s + b$  on the hyperbolic curve of timed dose-response relationship (TDRR). (Analogue figures by computer). A: H type TDRR,  $c(\text{curve } 1) < c(\text{curve } 2) < c(\text{curve } 3)$ . B: T type TDRR,  $s(\text{curve } 1) < 1$ ,  $s(\text{curve } 2) = 1$ ,  $s(\text{curve } 3) > 1$ .

另外, 双曲线函数  $y = (ax+b)/(cx+d)$ , ( $ad-bc \neq 0$ )<sup>(6)</sup> 也可拟合双曲线型 TDRR, 其直线化式有实际意义: 取  $x_0 = 0$ ,  $y_0 = b/d$ , 有  $x/(y-y_0) = A+Bx$ , 比值即单位时间强度变化所需的剂量, 故列为模型 III,  $x$  取对数为模型 IV, 但它是模型 I、II 中  $s=1$  的特例。另选模型 V:  $y = 1/(bx+a)$ <sup>(4)</sup>, VI:  $y = ax^{b(2,8)}$ , VIII:  $y = 1/(b \ln x + a)$ <sup>(2)</sup>, IX:  $y = ab^{x(7)}$ , 及 VI 变化的 VII:  $y = a(\ln x)^{b5}$  种为对照模型。

## 材料与方 法

### 肝素体外抗凝作用量-效关系实验

1. 试剂和仪器 肝素第八次国家标准品(HS, 168 IU/mg, 卫生部药品生物制品检定所)。肝素注射液(HI, 12 500 IU/2 ml, 上海生化制药厂)。(人)凝血酶粉(100 BPU/支, 上海生物制品研究所)。兔脑凝血活酶粉(0.1 g/支, 上海湖南化剂室)。BFS-1型血液纤维仪(上海医用分析仪器厂)。

2. 兔全血法 仿中国药典(1985年版)法。 $\sigma$ 兔4只, 体重 $2.6 \pm \text{SD } 0.6$  kg, 取颈动脉血。HS终浓度2.0 IU/ml, 1:0.75剂距共18组进行4次实验。试管加湿润棉塞并按英国药典(BP, 1980)倒转法观察凝血时间CT。

3. 硫酸钠兔全血法 按中国药典并参考BP、日本药局方(第十改正)。 $\sigma$ 兔5只, 体重 $2.6 \pm 0.3$  kg, 颈动脉血按 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  422 mmol/L:兔全血容量比1:4制备血样。肝素终浓度0.633 IU/ml, 1:0.75剂距共11组, HS 5次, HI 4次实验。

4. 兔血浆 RT法<sup>(6)</sup>  $\sigma$ 兔6只, 体重 $2.6 \pm 0.2$  kg, 肝素终浓度0.375 IU/ml, 1:0.8剂距共9组。按血浆:肝素: $\text{CaCl}_2$  90 mmol/L容量比8:1:1(称8倍法)对HS进行5次实验, 血浆:肝素:生理盐水: $\text{CaCl}_2$  90 mmol/L为5:1:3:1(称5倍法)对HS及HI各实验7次, 倒转法观察。

5. 猪血浆 RT法 制备混合猪血浆, 实验方法同兔血浆法。肝素终浓度0.3 IU/ml, 1:0.9剂距共11组。其中8倍法用 $\text{CaCl}_2$  117 mmol/L溶液。对HS和HI分别用8倍法及5倍法各实验6次。

6. 羊血浆 RT法 按美国药典(USP XX)及报道方法<sup>(8)</sup>制备血浆。操作同兔血浆法。HS终浓度1.094 IU/ml, 1:0.9剂距共9组。分别用8倍法和5倍法各测定4次。

7. 猪血浆 TT法 血浆同RT法, 仿文献<sup>(7)</sup>结合BFS-1型血液纤维仪方法实验。肝

素终浓度0.38 IU/ml, 1:0.75剂距共8组。以TT>500 s为观察终止时限。对HS及HI各测定3次。

凝血酶与TT量-效关系实验 试剂仪器同猪血浆TT法。凝血酶浓度100 BPU/ml, 1:0.5剂距共8组。按BFS-1型血液纤维仪方法测定, 顺序与高低剂量组交叉进行, 以TT>900 s为观察终止时限。测定4次。

阿托品与小鼠致死潜伏期关系实验 硫酸阿托品(北京制药厂)配制10%(wt/vol)的浓度, 1:0.7剂距共6组, 生理盐水对照。小鼠35只, 体重 $18.6 \pm 1.6$  g,  $\sigma$   $\delta$ 不拘, 按体重分层随机分组, 最高、低剂量1000、168 mg/kg ip。观察注射开始至死亡时间为致死时间(潜伏期), ip时间5 s, 最长观察12 h, 其中168 mg/kg组均>12 h。

## 结果与分析

实验结果 多方法肝素与体外血凝时间关系实验14系列, 凝血酶-TT关系1系列, 阿托品与小鼠致死潜伏期关系1系列共16系列(各有3-7次重复)。各系列剂组间变异 $F'$ 测验<sup>(9,10)</sup>全部有显著性意义(表1), 表明实验结果确有量-效关系存在, 可分析其定量规律。

各系列数据按剂组的重复数求 $\bar{x}$ , SD及

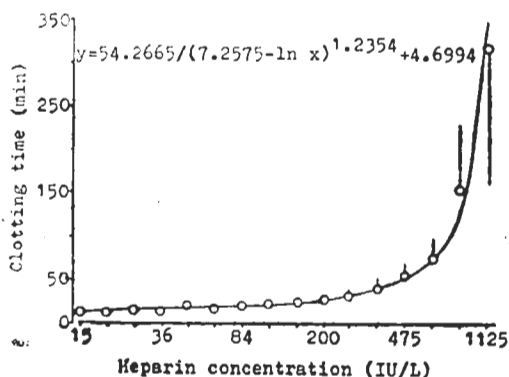


Fig 2. A dose-response curve of heparin-clotting time *in vitro* (the rabbit whole blood method, Series 1). The line is nonlinear least-square fitted to the function  $y = c^{a+1} / (|\ln x - a|)^s + b$  (Model II), weighting the square error inversely with the square of SE.  $\bar{x} \pm \text{SD}$ .

Tab 1. Timed dose-response relationship data. CT: clotting time, HS: the national preparation of heparin, HI: heparin injection, RT: recalcification time, TT: thrombin time, 5 FM: 5-fold method, 8 FM: 8-fold method. \*\*p<0.05, \*\*\*p<0.01

Series	Dose-response relationship	Experiment method	Replications	F' test
1	Heparin-CT of whole blood	Rabbit, HS	4	9.18***
2		Rabbit, Sulphated, HS	5	5.57***
3		Rabbit, Sulphated, HI	4	6.33***
4		Rabbit, 5 FM, HS	7	4.77***
5		Rabbit, 8 FM, HS	5	5.95**
6		Rabbit, 5 FM, HI	7	4.64***
7		Pig, 5 FM, HS	6	24.30***
8		Pig, 8 FM, HS	6	5.26***
9		Pig, 5 FM, HI	6	5.05***
10		Pig, 8 FM, HI	6	9.10***
11	Heparin-RT of plasma	Sheep, 5 FM, HS	4	4.05**
12		Sheep, 8 FM, HS	4	3.54**
13		Pig, Fibrometer, HS	3	133.43***
14		Pig, Fibrometer, HI	3	51.79***
15	Thrombin-TT of plasma	Pig, Fibrometer	4	186.78***
16	Atropine-lethal time	Mice, ip	5	9.59***

Tab 2. Parameters in which 16 series of mean dose-response data were fitted to curves of Model I or II. Model I:  $y = c^{s+1}/(|x-a|)^s + b$ ; Model II:  $y = c^{s+1}/(|\ln x - a|)^s + b$ ; a: dosage parameter; b: response parameter; c: curvature parameter; s: skewness parameter

Series	Model I				Model II $\ln(x) = \ln(\text{dose} \times 1000)$			
	a	b	c	s	a	b	c	s
1	3.2326	- 9.4143	4.2008	6.4764	7.2575	4.6994	5.9695	1.2354
2	0.7036	- 6.8740	0.9405	7.2256	11.8993	2.7595	7.6046	17.8128
3	1.2341	- 14.0918	1.4491	12.9474	13.1069	0.6626	8.8915	19.9271
4	0.3559	0.0010	0.4689	5.1126	7.3923	3.8378	3.0170	10.0231
5	0.2034	3.5040	0.5051	2.5249	8.8552	3.3532	5.0257	13.0802
6	0.3606	- 1.3355	0.5191	4.7638	7.3670	2.6350	3.2224	8.1432
7	0.3542	1.7485	0.3520	2.7400	5.9356	2.2715	0.9476	2.7968
8	0.3131	3.4145	0.3197	2.1162	6.0767	4.1784	0.9322	4.7071
9	0.2601	2.1609	0.2700	2.0331	8.3989	2.8090	3.1728	20.0000
10	0.2739	3.6079	0.2479	2.0662	5.8691	4.1115	0.7649	4.4027
11	0.9660	2.3507	0.5707	2.7649	6.8593	2.5319	0.6926	2.3263
12	1.0841	0.1096	2.0944	1.0058	7.0002	3.0872	1.8127	1.1115
13	0.2734	15.5718	0.5952	2.4350	5.7087	20.6618	1.7932	2.6800
14	0.1829	16.3916	0.7311	1.5058	6.3202	26.9211	1.9894	8.8043
15	1.4505	1.2328	8.5476	0.8551	7.1144	- 1.0189	3.8954	1.6113
16	5.5458	3.9481	97.6019	2.1206	8.6474	3.4564	4.3872	8.2937

SE 即为平均量-效关系数据 (其中第 1 系列报告于图 2), 显示量-效关系符合双曲线特征, 且 SD 随观测值增大而增大。

### 模型分析

1. 非线性拟合与模型分析 9 种模型对

16 系列平均量-效数据进行加权非线性最小二乘法(阻尼法)<sup>(11)</sup>拟合, 权重系数用实验数据的 SE 平方的倒数<sup>(9,10)</sup>。模型 I-IX 获 4 个最优参数估计值, 而模型 V-IV 为 2 个参数。模型 I、II 的结果见表 2, 拟合结果加权估计

误差的偏离性<sup>(10)</sup> F' 测验结果见表 3, 表明仅模型 I、II 适合于全部实验数据。拟合适度<sup>(10)</sup> 的 F' 测验结果与此一致(表 4), 拟合优度对比的 F' 测验表明 V-IX 5 种模型仅个别模型对个别系列数据优于 III 外, 均较 I、II、IV 差, 将模型 I-IV 的对比结果列于表 5, 表明优劣顺序为 II、I、III 和 IV。模型 VI 仅对兔血浆 RT 法, V 仅对猪、羊血浆 RT 法有参考价值。

2. 直线化分析与模型评价 非线性拟合基础上, 对 16 系列原始实验数据按 9 种模型进行数据转换, 转换值的直线性测验<sup>(2)</sup>(对比起见, 全部用 F 测验, 下同)表明模型 II 对全部、I 对第 13 以外系列合格, III、IV 有 3、2 系列, 其余有 7-12 系列不合格、转换值平均量-效关系数据直线回归的显著性测验除模型 III 对第 1, VI、VII 对第 14, IX 对第 15 系列外, 回归项都有显著性意义。回归 F 值及 |r| 对比显著性测验<sup>(2)</sup>表明 V-IX 5 种模型几无优于 I-IV, 后者两两对比表明优劣次序为 II、I、IV 及 III。用 9 种模型对 16 系列平均量-效数据进行直线化转换并进行回归显著性和拟合优度对比分析, 结果与上述一致。

3. 方差齐性分析与模型评价 对 16 系列

Tab 3. F' test of weighted square error from curve fitting of 16 series of data to 9 models. Model I-IX:  $y = c^{s+1}/(|x-a|)^s + b$ ,  $y = c^{s+1}/(|\ln x - a|)^s + b$ ,  $y = (ax+b)/(cx+d)$ ,  $y = (a \ln x + b)/(c \ln x + d)$ ,  $y = 1/(bx+a)$ ,  $y = ax^b$ ,  $y = a(\ln x)^b$ ,  $y = 1/(b \ln x + a)$ ,  $y = ab^x$ . \* $p > 0.05$ , \*\* $p < 0.05$

Model	Acceptable series*	Unacceptable series** (No.)
I	16	0
II	16	0
III	14	2(1,4)
IV	14	2(13,15)
V	7	9(1-6,10,14,15)
VI	9	7(7,8,10,11,13-15)
VII	6	10(1,4,7-11,13-15)
VIII	5	11(2-8,10,13-15)
IX	9	7(7,8,10,11,13-15)

Tab 4. Goodness-of-fit test of curve fitting of 16 series of data to 9 models. Model I-IX:  $y = c^{s+1}/(|x-a|)^s + b$ ,  $y = c^{s+1}/(|\ln x - a|)^s + b$ ,  $y = (ax+b)/(cx+d)$ ,  $y = (a \ln x + b)/(c \ln x + d)$ ,  $y = 1/(bx+a)$ ,  $y = ax^b$ ,  $y = a(\ln x)^b$ ,  $y = 1/(b \ln x + a)$ ,  $y = ab^x$ . Number of series (see Tab 1) in parentheses.

Model	Series $p < 0.01$	Series $p < 0.05$	Unacceptable series $p > 0.05$
I	16	0	0
II	16	0	0
III	14	1	1(4)
IV	15	0	1(11)
V	8	3	5(2-6)
VI	8	4	4(4,8,11,14)
VII	6	4	6(4,8-11,14)
VIII	8	2	6(2-6,14)
IX	8	2	6(8,10,11,13,14,16)

Tab 5. Comparison of goodness-of-fit of curve fitting of 16 series of data to 4 models. Model I-IV:  $y = c^{s+1}/(|x-a|)^s + b$ ,  $y = c^{s+1}/(|\ln x - a|)^s + b$ ,  $y = (ax+b)/(cx+d)$ ,  $y = (a \ln x + b)/(c \ln x + d)$ . \*">" means "superior to". Series number with significant difference in parentheses.

Model	I	II	III	IV
I > *	—	2(0)	13(3)	13(3)
II >	14(3)	—	15(5)	16(5)
III >	3(0)	1(0)	—	12(1)
IV >	3(1)	0(0)	4(1)	—

原始实验数据及各种转换值进行剂组间方差齐性 Bartlett 测验<sup>(9)</sup>, 表明原始值全部方差不齐, 对数转换仍有 8 系列, 倒数转换有 5 系列不齐, 而  $y' = \ln(y-k)$  转换除第 11 系列有一组 SD=0 外均相齐, 且本文模型 I、II 是  $y' = \ln(y-b)$  转换而直线化的, 且 k 与模型 I 之 b 间相关分析  $r = 0.7358(p < 0.01)$ , k 与 II 之 b 间  $r = 0.9697(p < 0.01)$ , 两者回归分析之回归系数均接近 1, 说明模型 I、II 之直线化转换使方差稳定的作用是可取的。

4. 其它相关分析 第 1-14 系列的基础反应值  $T_0$  (正常凝血时间) 与理论  $y_0$  值相关分析:

模型 I  $y_0 = c^{s+1}/a^s + b$ , 模型 II  $y_0 = b$ , 模型 III  $y_0 = b/d$ , 模型 IV  $y_0 = a/c$ . 结果模型 I、II 之  $y_0$  与  $T_0$  之  $r$  为 0.9573, 0.9264 ( $p < 0.01$ ), 且对应回归系数为 0.9004 和 0.9129, 说明该模型的估计值  $y_0$  与实测值  $T_0$  基本吻合. 模型 III、IV 不吻合.

## 讨 论

**双曲线型 TDRR 的统一模型** 实验和理论分析表明, 双曲线型 TDRR 能代表一些 TDRR 的基本特征, 但目前常用的直线化模型<sup>(2,7)</sup>(模型 VI、VIII、IX 等)在全面拟合及方差稳定上有明显的局限性. 本文提出的双曲线型四参数模型由于四个参数的相应和组合调整具有全面的拟合能力, 经实验数据及其非线性、直线化及方差齐性分析证明, 确实优于其它模型, 可作为双曲线型 TDRR 的统一模型, 尤其四个参数可望成为反映药物之 TDRR 特征的药效参数.

**肝素抗凝作用量-效关系模型的实际应用** 肝素的检定、应用和药理研究都要用其量-效关系模型, 建议使用模型 I 为通用模型, 并用其四个参数评价实验方法和描述肝素作用性质.

TDRR 这一新的领域中, 本研究仅是初步的探索, 在模型的完善和应用、生物学意义、其它类型 TDRR 模型的建立等方面都有待深入的研究.

**致谢** 文尚武教授给予凝血实验指导, 伍必英、张良华指导并参加部分实验.

## 参 考 文 献

- 1 汪萌芽、孙瑞元. 时反应量效关系及其研究现状. 中国药理学通报 1987; 3 : 111
- 2 周海钧、申蕴如、朱承伟、李君实, 编著. 生物检定统计方法. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 1983 : 72-98
- 3 Bartl K, Dorsch E, Lill H, Ziegenhorn J. Determination of the biological activity of heparin by use of a chromogenic substrate. *Thromb Haemost* 1979; 42 : 1446
- 4 Biggs R. *Human blood coagulation, haemostasis and thrombosis*. 2nd ed. Oxford: Blackwell Scientific Publ, 1976 : 32-41
- 5 华罗庚. 高等数学引论. 第1卷 第1分册. 北京: 科学出版社, 1963 : 67-91
- 6 王金鼎. 肝素对羊、兔血浆体外抗凝作用剂量反应关系的比较. 药物分析杂志 1985; 5 : 35
- 7 Marbet GA, Duckert F. Chromogenic and fluorogenic assays -- a challenge for conventional monitoring of heparin therapy? In: Witt I, ed. *Heparin: new biochemical and medical aspects*. 1st ed. Berlin : Walter de Gruyter, 1983 : 343-62
- 8 朱斐斐、常明、李书. 用羊血浆比浊法测定肝素生物效价的初步探讨. 药物分析杂志 1984; 4 : 352
- 9 上海第一医学院卫生统计学教研组. 医学统计方法. 第1版. 上海: 上海科学技术出版社, 1979 : 48-53
- 10 郭祖超、陆守曾, 编. 医用数理统计方法. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 1963 : 311-3, 414-66
- 11 冯康、张建中、张绮霞、杨自强、曹维潞, 编. 数值计算方法. 第1版. 北京: 国防工业出版社, 1978 : 147-72

## Mathematical models for hyperbolic type of timed dose-response relationship of drugs

WANG Meng-Ya, SUN Rui-Yuan

(Laboratory of Mathematical Pharmacology, Wannan Medical College, Wuhu 241000)

**ABSTRACT** Based on the time and space appearance of drug effect, the timed dose-response relationship (TDRR) was studied. According to the characteristics of the hyperbolic TDRR curve, the hyperbolic four-parameter model (HFPM) was designed: model I is  $y = c^{s+1}/(|x-a|)^s + b$ , where  $a$  is dosage parameter,  $b$  response parameter,  $c$  curvature parameter and  $s$  skewness parameter. By logarithm transformation of dosage, model I turns to be model II. In this study, 16 series of TDRR data with replication were obtained, in heparin-clotting times *in vitro* (14 series), thrombin-thrombin time (1 series) and atropine-lethal time of mice (1 series). These data were nonlinear least-square fit to 9 models, including 7 control

models, weighting the square error inversely with the square of SE. Moreover, the metameter data of  $y$  and  $x$  according to 9 models were analysed by linear regression. From the results of nonlinear and linear fit, 9 models were compared in square error and goodness of fit. Combining Bartlett test of 16 series of original and metameter data, HFPM is proved the best model for hyperbolic TDRR. But, the use and biological explanation of HFPM, the design of models for other type TDRR remain unsolved.

**KEY WORDS** pharmacodynamics; drug dose-response relationship; mathematical models; heparin; thrombin; atropine