

加快有关。

此外,低硒兔与非低硒兔对亚硒酸钠的生物利用度分别为 $54 \pm 13\%$ 和 $21 \pm 6\%$, 差异非常显著 ($P < 0.01$), 说明低硒动物对硒的吸收利用大大提高。

上述对比结果表明:低硒兔对亚硒酸钠的体内分布速度快且范围广,生物利用度高,提示低硒人群补硒给药方案设计,用低硒人群亚硒酸钠的药物动力学参数比正常人的药物动力学参数更为适宜。低硒人群的药物动力学特点有待研究。

REFERENCES

- 1 Keshan Disease Research Group of Chinese Academy of Medical Sciences. Observations on effect of sodium selenite in prevention of Keshan disease. *Chin Med J* 1979; 92 : 471
- 2 Li CZ, Huang JR, Li CX. Sodium selenite as a preventive measure for Kaschin-Beck disease as evaluated in x-ray studies. In: Combs GF Jr, Spallholz JE, Levander OA, Oldfield JE, eds. *Selenium in biology and medicine*. 1st ed. NY: Van Nostrand Reinhold, 1987 : 934-7
- 3 Guo JA, Tang FZ, Li GM, Wang XY, Liu Y. A pharmacokinetic study of sodium selenite in rabbits. *Chin J Pharmacol Toxicol* 1986; 1 : 41
- 4 Guo JA, Tang FZ, Li GM, et al. A pharmacokinetic study of sodium selenite in men. *Chin J Clin Pharmacol* 1985; 1 : 117
- 5 Wilkie JB, Young M. Improvement in the 2, 3-diaminonaphthalene reagent for microfluorescent determination of selenium in biological materials. *J Agric Food Chem* 1970; 18 : 944
- 6 Boxenbaum HG, Riegelman S, Elashoff RM. Statistical estimations in pharmacokinetics. *J Pharmacokinet Biopharm* 1974; 2 : 123
- 7 Strike PW. *Medical laboratory statistics*. 1st ed. Bristol; John Wright, 1981 : 116-52
- 8 Endrenyi L. Statistical problems of kinetic model building. In: Lakatos S, Keleti T, eds. *Mathematical models of metabolic regulation*. Budapest: Akademiai, 1974 : 11-30

中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1990 Mar, 11 (2) : 187-192

一个用 logistic 模型分析量-效关系的程序

王楠、赵德化、盛宝恒 (第四军医大学药理教研室, 西安 710033, 中国)

A program for analysis of dose-response relationship with logistic model

WANG Nan, ZHAO De-Hua, SHENG Bao-Heng (Department of Pharmacology, The Fourth Military Medical College, Xi-an 710033, China)

ABSTRACT In order to avoid the defects in common methods for analysis of dose-response curves, we fit groups of dose-response curves simultaneously or separately on computer by using logistic model, with the EC_{50} and slope factor as the basic parameters. The pD_5 and pA_5 values were calculated from the best estimated EC_{50} s. This method shows a good compatibility with the original experimental data. The BASIC

program can be conveniently run on micro-computers.

KEY WORDS drug dose-response relationship; biometry; software.

摘要 为了避免拟合量-效曲线常用方法中的缺点,我们用 logistic 方程,以 EC_{50} 及斜率因子为基本参数,在计算机上对成簇量-效曲线进行同步拟合或单独拟合。由得到的最佳 EC_{50} 值及其误差,可计算出 pD_5 及 pA_5 值及其误差。此方法对原始数据相容性高,使用方便。用 BASIC 语言编制的程序可在微型计算机上运行。

关键词 药物剂量-效应关系; 生物统计学; 软件

Received 1988 Dec 19 Accepted 1989 Oct 16

拟合量-效曲线在许多药理学研究中,特别在受体研究中,是不可缺少的基本工具。用直

接作图法及各种曲线直线化方法拟合量-效曲线有许多缺点。Waud 首先用 logistic 函数对成簇量-效曲线进行同步分析⁽¹⁾，并以计算机辅助作参数估计⁽²⁾。其方法具有客观、简便、准确、快速等优点。但我们在使用此程序⁽²⁾时，发现它对量-效原始数据有较大限制，而且不能对独立曲线进行单独拟合。这在实际应用中会产生许多困难。我们对 Waud 的方法作了进一步改进，使它对药理量-效原始数据具有更强的适应性，而且不仅可用于成簇量-效曲线的同步分析，又能单独拟合独立的量-效曲线。

METHODS

以对数尺度为横坐标得到的对称形 S 形曲线直接用 logistic 函数可以得到满意的描述。对于量-效曲线，logistic 函数的一般形式经变换成为

$$E = M \cdot A^p / (A^p + K^p) \quad [1]$$

式中 E 为效应量， M 为最大效应， A 为激动剂浓度(算术值)， K 为曲线的 EC_{50} ， P 是与曲线斜率有关的一个量，可称作斜率因子。

对于一族 n 条曲线，令它们具有相同的 M 和 P 及各自的 EC_{50} 值即 K_i ，则式[1]可变成

$$E = A^p / (A^p + K_i^p) \quad (i = 1, \dots, n) \quad [2]$$

要确定该函数，就须确定 M 、 P 及 K_i 值。我们发现，当曲线在大剂量趋于平台时，用观测到的最大值作 M ，可使拟合曲线接近最佳；当曲线不明显趋于平台时，则 M 选值对曲线拟合优度影响不大。我们曾尝试将 M 作为变量拟合，但拟合过程通常不收敛。所以，我们选取观测的最大值作为 M ，令为常数。

取[2]式的微分式

$$dE = \frac{\partial E}{\partial P} dP + \frac{\partial E}{\partial K_i} dK_i \quad (i = 1, \dots, n) \quad [3]$$

该式可变形为

$$dE = \frac{\partial E}{\partial P} dP + \frac{\partial E}{\partial K_1} dK_1 + \frac{\partial E}{\partial K_2} dK_2 + \dots + \frac{\partial E}{\partial K_n} dK_n \quad [4]$$

其中对于某一曲线 i ，有相应的 K_i 值，而其余含 K 各项均为零。

在变化值很小时，[4]式近似为

$$\Delta E = \frac{\partial E}{\partial P} \Delta P + \frac{\partial E}{\partial K_1} \Delta K_1 + \frac{\partial E}{\partial K_2} \Delta K_2 + \dots + \frac{\partial E}{\partial K_n} \Delta K_n \quad [5]$$

这是一个多元线性方程，给出 P 及 K_i 的初始值(目测估计值)作多项式回归，则可用最小二乘法求出[5]式中 ΔP 及各项 ΔK_i ，从而计算出新的 P 及 K_i 值。同时可得到所拟合曲线的误差方和，并由此计算出所求 P 及 K_i 的标准差。

将所得的 P 及 K_i 再代入[5]式作新的一轮回归，可以得到新的 P 及 K_i ，反复叠代若干次，直到拟合达到一定精度，就可得出最优拟合的参数及其标准差。

选取合适的 P 及 K_i 初始值，是程序正常运行的保障。在我们程序使用中，发现 P 及 K_i 可以有较大的选择范围。对于通常的量-效曲线 P 值选作 1.5 均能顺利运行。 K_i 值由大概估计各曲线中点对应的剂量来确定。由于它能容许较大范围的误差，一般不会由于 K_i 值选取不当而中止运行。

由得出的 K_i 值即 EC_{50} ，可按式[6]和[7]计算曲线的 pD_2 值⁽³⁾及在拮抗剂存在下的剂量比(dose ratio, DR)和 pA_2 值⁽⁴⁾。由 K_i 的标准差，也可计算出相应 pD_2 值及 pA_2 值的标准差。但通常 pA_2 值的标准差应由若干标本的 pA_2 平均后求出⁽⁵⁾。

$$pD_2 = -\log(EC_{50}) \quad [6]$$

$$pA_2 = -\log(B) + \log(DR - 1) \quad [7]$$

检验拮抗剂是否为竞争性，从检验曲线是否平行并无确定的肯定或否定意义⁽⁴⁾。对于竞争性拮抗剂，用求出的 DR 值作 Schild 作图应满足两个条件：直线回归显著且斜率为 -1，此时 pA_2 值方可作为竞争性拮抗剂的特征参数⁽⁶⁾。

EXAMPLES

以 Lineweaver-Burk 方程拟合量-效曲线是

Tab 1. Depolarization of isolated guinea pig lumbrical muscle during application of various concentrations of carbachol in the presence of tubocurarine.

Tubocurarine ($\mu\text{mol/L}$)	Carbachol ($\mu\text{mol/L}$)	Depolarization (mV)
0	5	0.45
	10	1.5
	10	1.4
	20	2.8
0.1	10	0.55
	20	1.65
	30	2.5
0.2	20	0.9
	30	1.85
0.4	20	0.45
	30	0.9
	40	1.35
	60	2.15

常用的一般方法⁽⁷⁾。我们用双倒数法程序⁽⁸⁾及 Waud 的程序⁽²⁾，与按前述方法编制的程序 (APPENDIX) 作一比较。

例 1. 同步拟合 用 Waud⁽²⁾ 所列的实验数据 (Tab 1)⁽²⁾ 在程序中输入计算机进行同步拟合，运行过程及结果见 APPENDIX，得到 3 个 pA_2 值相差很小，其 $\bar{x} = 6.900 \pm SD 0.0085$ ，换算成 K_B 值为 $126 \pm 2.5 \text{ nmol/L}$ ，与 Waud 方法得到的 K_B 值 $127 \pm 8.5 \text{ nmol/L}$ 十分相近。

在 Waud 的原始实验中，为了使标本有较好的重复性，氨甲酰胆碱剂量并未加至足够大⁽²⁾，各条曲线均未趋近平台。所以实验观测到的 2.8 mV 不一定是最大反应值。我们增加 M 值，观察拟合结果的变化 (Tab 2)。可以看出， M 取值变化，对 EC_{50} 有很大影响，但对 pA_2 值影响很小。与 Waud 的结论⁽²⁾ 相符。

将对照曲线与其它 3 条曲线中任一条或两条作同步拟合，程序仍能正常运行，所得 pA_2 值基本不变。但用 Waud 程序，拟合数据减少常会使程序中断运行。

用双倒数法程序⁽⁷⁾ 作图，不能对一族曲线同步拟合。而作单独拟合时，由于各曲线均未

Tab 2. Fitting results under different M (maximum effect) values.

M	3	4	5	6	8	10
K (0)	9.98	13.17	16.89	20.82	28.95	37.20
K (1)	17.90	23.63	29.95	36.59	50.35	64.36
K (2)	26.09	33.51	42.02	51.05	69.82	88.94
K (3)	41.91	55.06	69.68	85.06	116.89	149.28
pA_2 (1)	6.900	6.900	6.888	6.879	6.869	6.863
pA_2 (2)	6.907	6.880	6.872	6.861	6.849	6.842
pA_2 (3)	6.903	6.901	6.893	6.887	6.881	6.877

趋向平台，且数据很少，所以也未能拟合出正确的曲线。

例 2. 单独拟合 我们发现阿扑吗啡对豚鼠左心房有正性变力作用，但累积加药后，标本经冲洗活性不易恢复。为了观察氟哌啶醇的拮抗作用，我们将左房分为两只肌条置于两浴槽中，其一加入拮抗剂，另一只作对照。数据见 Tab 3。由于可能存在标本间差异及浴槽间差异，两条曲线不一定有相同的 M 及 P 值，不适于作同步拟合。

将两组数据分别直接输入程序做单独分析，可得到各自的 EC_{50} 值及其误差。由此计算出 pA_2 值为 6.502 ± 0.051 。

将数据直接输入双倒数法程序作双倒数拟合，会得到错误的参数 (最大反应为负数)。将

Tab 3. Positive inotropic effect of apomorphine on isolated guinea pig left atrial strips in the presence of haloperidol.

Haloperidol ($\mu\text{mol/L}$)	Apomorphine ($\mu\text{mol/L}$)	ΔP_e (mg)
0	2	2
	4	18
	8	45
	16	65
	32	82
	64	98
	128	95
	1	8
16		13
32		36
64		73
128		103

两条曲线的最小反应点去除, 并给拮抗曲线加一剂量假想点($A=150, E=100$)后, 两条曲线方可顺利拟合, PA_2 值为 6.693 ± 0.112 。与前一方法相比, 其 PA_2 值略高, 且误差较大。

Waud 的程序不能对这两条曲线作单独拟合。

DISCUSSION

Lincweaver-Burk 方程

$$\frac{1}{E} = \frac{K}{E_{max}} \frac{1}{A} + \frac{1}{E_{max}}$$

是在效应与受体占据分数成正比的假定下, 由

$$\frac{E}{E_{max}} = \frac{A}{K+A}$$

推导而得的, 而这一假定通常并不成立⁽⁴⁾。所以, 双倒数作图并不一定符合药效动力学模型, 而是一种数学拟合方法。由于拟合时容易受小剂量数值误差的影响, 常需略去几个小剂量的数值, 甚至人为增加大剂量时曲线的点⁽⁷⁾。这种做法, 一方面增加了主观性的影响, 另一方面降低了原始数据的可用性, 在曲线上点数较少时, 甚至不能拟合。

Waud 利用 logistic 方程

$$E = \frac{A^p}{A^p + [K(1 + B^q/K_p)]^p}$$

拟合一族量-效曲线, 其中 K_p 为拮抗剂的解离常数。该方法由于人为迫使各曲线具有相同的 M, P, K, K_p 以及 Q 等值, 使得对原始数据有较大限制。在各曲线间变异较大, 或不存在竞争性拮抗时, 程序不能顺利运行; 原始数据较少时, 拟合过程也会中断。而且该方法只用于成族曲线的同步拟合, 不能单独拟合一条曲线。

我们的方法, 仅限定各曲线具有相同的 M 及 P 值, 从而对原始数据的适应性很强。这种直接拟合比直线化拟合有更高的精度⁽⁸⁾。它既可同步拟合一族曲线, 也可单独拟合一条曲线。在我们实际应用中, 对一般数据均可很好地拟

合。只有极个别数据, 由于曲线斜率过大, 使计算机运算溢出而中断运行。

我们的程序是用标准 BASIC 语言编制的, 可在一般的微型机, 如 IBM-PC, Apple II 上运行。

APPENDIX: Our program

```

10 DATA 4
20 DATA 4, 0, 10
30 DATA 5, .45, 10, 1.5, 10, 1.4, 20, 2.8
40 DATA 3, 0.1, 20
50 DATA 10, .55, 20, 1.65, 30, 2.5
60 DATA 2, .2, 25
70 DATA 20, .9, 30, 1.85
80 DATA 4, .4, 40
90 DATA 20, .45, 30, .9, 40, 1.35, 60, 2.15
500 REM DOSE-RESPONSE CURVE ANALYSIS
510 READ C
520 LET P = 1.5
530 FOR I = 1 TO C
540 READ N (I), B (I), K (I)
550 LET N = N + N (I)
560 FOR J = 1 TO N (I)
570 READ C (I, J), E (I, J)
580 IF M < E (I, J) THEN M = E (I, J)
590 NEXT J
600 NEXT I
610 LET R = C + 1
620 DEF FN P(X) = INT(X * 1000 + .5) / 1000
630 GOSUB 1000
640 GOSUB 2000
650 PRINT
660 PRINT "PARAMETER", TAB(17), "VALUE", TAB(30), "SD"
670 PRINT "-----"
680 PRINT "M", M
690 PRINT "P", TAB(17), FN P(P), TAB(30), FN P(SQR(S * M (1, 2) / (N - R)))
700 FOR I = 1 TO C
710 LET SD (I) = SQR (S * M (I + 1, I + 2) / (N - R))
720 PRINT "K(", I - 1, ")", TAB(17), FN P(K(I)), TAB(30), FN P(SE (I))
730 LET SD = SE (I) / (2.3 * K (I))
740 PRINT "PD2 (" , I - 1, ")", TAB(17), FN P(6 - LOG(K(I)) / LOG(10)), TAB(30), FN P(SE)
750 NEXT I

```

```

760 PRINT
770 IF C=1 THEN 850
780 FOR I=2 TO C
790 LET DR (I) = FN P(K(I)/K(1))
800 LET SD = 1/K(1)*SQR((SE(I))^2+
(SE(I)*DR(I))^2)
810 PRINT "DR(", I-1, ")", TAB(17), DR
(I), TAB(30), FN P(SD)
820 LET PA2 (I) = FN P(LOG ((DR(I)-1)
/B(I))/LOG(10)+6)
830 PRINT "PA 2(", I-1, ")", TAB(17),
PA 2(I), TAB(30), FN P(SD/(2.3*(DR
(I)-1)))
840 NEXT I
850 END
1000 FOR I = 1 TO R + 1
1010 FOR J = 1 TO R + 4
1020 LET M (I, J) = 0
1030 NEXT J
1040 NEXT I
1050 PRINT
1060 PRINT "P", TAB (17), FN P (P)
1070 FOR I = 1 TO C
1080 PRINT "K(", I-1, ")", TAB(17), FN
P(K(I))
1090 NEXT I
1100 FOR I = 1 TO C
1110 FOR K = 1 TO R
1120 LET X(K) = 0
1130 NEXT K
1140 FOR J = 1 TO N(I)
1150 LET U = C (I, J) ^ P + K(I) ^ P
1160 LET X (I) = M * C (I, J) ^ P * K
(I) ^ P * LOG (C(I, J) / K (I)) / U
^ 2
1170 LET X (I + 1) = - M * P * C (I,
J) ^ P * K (I) ^ (P - 1) / U ^ 2
1180 LET X(R + 1) = E (I, J) - M * C(I,
J) ^ P / U
1190 FOR K = 1 TO R
1200 FOR L = 1 TO R + 1
1210 LET M (K, L) = M(K, L) + X(K) *
X(L)
1220 NEXT L
1230 NEXT K
1240 NEXT J
1250 NEXT I
1260 GOSUB 3000
1270 LET P = P + M (I, 1)
1275 LET K = ABS (M (I, 1) / P)
1280 FOR I = 1 TO R - 1
1290 LET K(I) = K(I) + M(I+1, 1)
1295 LET K = K + ABS(M(I+1/1)/K(I))
1300 NEXT I
1310 IF K > .001 THEN 1000
1320 RETURN
2000 FOR I = 1 TO C
2010 FOR J = 1 TO N(I)
2020 LET E = M * C(I, J) ^ P / (C(I, J)
^ P + K(I) ^ P)
2030 LET S = S + (E(I, J) - E) ^ 2
2040 NEXT J
2050 NEXT I
2060 RETURN
3000 FOR I = 1 TO R
3010 LET M(I, R+4) = 1/SQR (M(I, I))
3020 NEXT
3030 LET M(R + 1, R + 4) = 1
3040 FOR I = 1 TO R
3050 FOR J = 1 TO R + 1
3060 LET M(I, J) = M(I, J) * M(I, R +
4) * M(J, R + 4)
3070 NEXT J
3080 NEXT I
3090 LET M(R + 1, R + 3) = - 1
3095 LET M(1, R + 2) = 1
3100 FOR K = 1 TO R
3110 FOR I = 1 TO R
3120 LET M (I, R + 3) = M(I, 1)
3130 NEXT I
3140 FOR J = 1 TO R + 1
3150 FOR I = 1 TO R
3160 LET M(I, J) = M(I + 1, J + 1) - M
(I + 1, R + 3) * M(I, J + 1) / M(1,
R + 3)
3170 NEXT I
3180 NEXT J
3190 NEXT K
3200 FOR J = 2 TO R + 1
3210 FOR I = 1 TO R
3220 LET M(I, J) = M(I, J) * M(I, R + 4)
* M(J - 1, R + 4)
3230 NEXT I
3240 LET M(J - 1, 1) = M (J - 1, 1) *
M(J - 1, R + 4)
3250 NEXT J
3260 RETURN

```

P	1.5	P	2.742
K(0)	10	K(0)	8.665
K(1)	20	K(1)	13.709

K(2)	25	K(2)	24.685
K(3)	40	K(3)	38.4
P	2.865	P	3.001
K(0)	9.424	K(0)	9.439
K(1)	16.538	K(1)	16.807
K(2)	24.828	K(2)	24.807
K(3)	39.542	K(3)	39.5
P	3.005	K(2)	24.807
K(0)	9.459	K(3)	39.529
K(1)	16.83		

PARAMETER	VALUE	SD
M	2.8	
P	3.006	.253
K(0)	9.459	.416
PD ₂ (0)	5.024	.019
K(1)	16.832	.933
PD ₂ (1)	4.774	.024
K(2)	24.807	1.277
PD ₂ (2)	4.605	.022
K(3)	39.531	1.716
PD ₂ (3)	4.403	.019
DR(1)	1.779	.126
PA ₂ (1)	6.892	.07
DR(2)	2.623	.178
PA ₂ (2)	6.909	.048
DR(3)	4.179	.258
PA ₂ (3)	6.9	.035

REFERENCES

- 1 Waud DR, Parker RB. Pharmacological estimation of drug-receptor dissociation constants. Statistical evaluation. II. Competitive antagonists. *J Pharmacol Exp Ther* 1971; 177 : 13
- 2 Waud DR. Analysis of dose-response relationships. In: Narahashi T, Bianchi CP, eds. *Advances in general and cellular pharmacology*; vol 1. NY: Plenum Press, 1976 : 145-78
- 3 van Rossum JM. Cumulative dose-response curves. II. Technique for the making of dose-response curves in isolated organs and the evaluation of drug parameters. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1963; 143 : 299
- 4 van den Brink FG. General theory of drug-receptor interactions. Drug-receptor interaction model. Calculation of drug parameters. In: van Rossum JM, ed. *Kinetics of drug action*. NY: Springer, 1977 : 169-254
- 5 MacKay D. How should values of pA_2 and affinity constants for pharmacological competitive antagonists be estimated? *J Pharm Pharmacol* 1978; 30 : 312
- 6 Kenakin TP. The classification of drugs and drug receptors in isolated tissues. *Pharmacol Rev* 1984; 36 : 165
- 7 Tallarida RJ, Murray RB. *Manual of pharmacologic calculations with computer programs*. 2nd ed. NY: Springer, 1987 : 26-31
- 8 Parker RB, Waud DR. Pharmacological estimation of drug-receptor dissociation constants. Statistical evaluation. I. Agonists. *J Pharmacol Exp Ther* 1971; 177 : 1

CNS effects of stress hormones and neuropeptides

(Satellite Symposium of the XIth International Congress of Pharmacology dedicated to David de Wied on the occasion of his retirement from the Chair of Medical Pharmacology at the University of Utrecht)

1990 Jun 30

Amsterdam

Please contact Mrs Ria van Vlaardingen, Secretary of the Symposium "CNS Effects of Stress Hormones and Neuropeptides", P O Box 5000, 3502 JA Utrecht, The Netherlands.