

Fig 1 Distribution of average fiducial limits rates (FL%) for univariate (A) and multivariate (B) assay in twin crossover design.

量测定也可用于其他实验设计, 如完全随机, 随机区组和拉丁方设计等, 在观察反应上, 可用于测定筒箭毒兔垂头法和整体心血管药物量时效指标等。

多变量测定设计中, 特异质反应删除和增补可按完全随机设计方法处理。在合并计算方面, Vølund⁽⁸⁾已描述了多变量测定结果的合并计算, 也可按中国药典(1985版)⁽⁹⁾统计法

合并计算实验结果。

REFERENCES

- 1 *British Pharmacopoeia*. 1980. Vol II. London: Her Majesty's Stationery Office, 1980 : A174
- 2 *United States Pharmacopoeia (XXI)*. Rockville USP Convention Inc, 1985 : 1180
- 3 Finney DJ. *Statistical method in biological assay*. 3rd ed. London: Charles Griffin, 1978 : 227-8
- 4 Vølund A. Multivariate bioassay. *Biometrics* 1980; 36 : 225
- 5 Lin ZG, Liu QL, Guo H, Ke RL. Bioassay of insulin by the estimation of blood sugar in mice: Determination of blood sugar by GOD method estimation. *Chin J Pharm Anal* 1985; 5 : 333
- 6 Lin ZG, Zhou HJ. Multivariate parallel-line statistical analysis for estimating potency of insulin. *J Biomath* 1989; 4 : 47
- 7 周海钧, 申蕴如, 主编. 生物检定统计方法. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 1988: 162
- 8 Vølund A. Combination of multivariate bioassay results. *Biometrics* 1982; 38 : 181
- 9 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典(二部). 1985年版. 北京: 化学工业出版社, 人民卫生出版社, 1985 : 附录 83

* * * * *

中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1989 Nov, 10 (6) : 568-571

估计竞争性拮抗剂 pA_2 的改良方法——等浓度效应法

徐端正 (上海医科大学基础医学部药理学教研室, 上海 200032, 中国)

A modified procedure for estimating pA_2 — equi-concentration effect method

XU Duan-Zheng (Department of Pharmacology, Faculty of Basic Medical Sciences, Shanghai Medical University, Shanghai 200032, China)

ABSTRACT This new procedure was proposed under the necessity of a fixed concentration of an agonist in the absence/

presence of an antagonist. As the odds ratio (OR) of the effects in the absence/presence of the antagonist under a fixed concentration is equal to the equi-effective dose ratio (DR) under a fixed effect, it

Received 1988 Nov 14 Accepted 1989 Apr 3

is possible to substitute OR for DR in A-S equation. Since the experiment is less expensive and more convenient than that of Arunlakshana and Schild, and the procedure for obtaining OR is much more time-saving and economic than that for obtaining DR, it is worthy for analyzing a competitive antagonist.

KEY WORDS drug antagonism; drug dose-response relationship; biometry

摘要 本文提出估计竞争性拮抗剂 pA_2 的等浓度效应法。由于加入拮抗剂前后的激动剂等浓度效应的 E_A 与 E_{AB} 的比数比例 $OR = E_A(1-E_{AB})/E_{AB}(1-E_A)$ 与等效浓度比 $DR = [A]'/[A]$ 相等, 前者不依赖于激动剂浓度, 后者不依赖于激动剂效应, 这就可使 Arunlakshana-Schild 等式中的 DR 代以 OR, 而由固定激动剂浓度求 OR 的实验过程要比求 DR 省力得多。

关键词 药物拮抗作用; 药物剂量-效应关系; 生物统计学

用等效浓度法求竞争性拮抗剂的 pA_2 是公认较好的方法。但它要求用实验求激动剂浓度-效应曲线以及加入不少于 3 个拮抗剂浓度后的各个激动剂浓度-效应曲线, 因此实验过程较长, 费时费力。本文提出不同于等效浓度法的等浓度效应法, 它不仅可作为前者的补充, 在已知竞争性拮抗作用的条件下, 它将是一个求 pA_2 的省时省力的简捷方法。

求 pA_2 的 A-S 方法 求竞争性拮抗剂 pA_2 的 Arunlakshana-Schild(A-S)方法⁽¹⁾是将加入不同浓度拮抗剂后的激动剂浓度-效应曲线与对照的浓度-效应曲线相比较, 以激动剂浓度-效应曲线右移作标志, 这个标志的定量方法由 A-S 等式表示:

$$[A]'/[A] = 1 + [B]/K_B \quad [1]$$

以上 $[A]$ 与 $[A]'$ 为分别加入拮抗剂浓度 $[B]$ 前、后的激动剂等效应浓度。 K_B 为拮抗剂的解离常数。从式[1]可知, 只要令 $[A]'/[A] = 2$, 即可得出 $K_B = [B]$ 。这说明若加入的拮抗剂浓度 $[B]$ 可使激动剂的等效浓度比为 2, 这个

拮抗剂浓度即为解离常数, 并定义这个拮抗剂浓度的负对数为 pA_2 。这就是求 pA_2 的等效浓度法。由此可知, 运用该法的必需条件是预先求出加入拮抗剂前后的激动剂浓度-效应曲线。

求 pA_2 的等浓度效应法 根据 Ariens 的受体占领理论⁽²⁾, 加入竞争性拮抗剂前后的激动剂浓度与效应关系分别为

$$E_A = [A]/([A] + K_A) \quad [2]$$

$$E_{AB} = [A]/([A] + K_A(1 + [B]/K_B)) \quad [3]$$

以上 E_A 与 E_{AB} 分别为加入拮抗剂浓度 B 前后的激动剂效应百分数, 又由于 $E_A/(1-E_A) = [A]/K_A$, $E_{AB}/(1-E_{AB}) = [A]/[K_A(1-[B]/K_B)]$, 因此, 当式[2]与式[3]的激动剂浓度相同时, 有

$$E_A(1-E_{AB})/[E_{AB}(1-E_A)] = 1 + [B]/K_B \quad [4]$$

将式[4]与式[1]比较, 可知式[1]的左边为等效浓度比, 而式[4]的左边为等浓度效应的比数比例(odds ratio)。现令这个比数比例为

$$OR = E_A(1-E_{AB})/[E_{AB}(1-E_A)] \quad [5]$$

则当 $OR = 2$ 时, 可得出 $K_B = [B]$, 并定义 $-\log[B] = pA_2$ 。式[4]或式[5]与激动剂所用的浓度无关。例如当激动剂浓度为 10^{-6}mol/L 时的效应 $E_A = 0.500$, 洗去后, 加入拮抗剂浓度 $[B] = 10^{-8} \text{mol/L}$, 仍用激动剂浓度 10^{-6}mol/L , 效应 $E_{AB} = 0.333$, 由于 E_A 与 E_{AB} 满足等式 $OR = 2$, 则可得出拮抗剂的解离常数 $K_B = 10^{-8} \text{mol/L}$; $pA_2 = 8$ 。

要直接找到 $OR = 2$ 的拮抗剂浓度是不易的, 因此只能用间接法。以固定的激动剂浓度, 先求出效应 E_A , 洗去后再分别加入 3 个或 3 个以上递增的拮抗剂浓度, 得出与拮抗剂浓度相对应的 E_{AB} , 于是由式[4]可得出

$$\log(OR - 1) = \log[B] - \log K_B \quad [6]$$

这是以纵轴为 $\log(OR - 1)$, 横轴为 $-\log[B]$ 的直线方程, 直线的斜率为 -1 , 在横轴上的截距为 pA_2 。如果令 $y = \log(OR - 1)$, $x = -\log[B]$, 得出直线方程为

$$y = a + bx \quad [7]$$

$$\text{则 } pA_2 = -a/b \quad [8]$$

$$SE(pA_2) = \frac{Se}{|b|} \sqrt{\frac{1}{k} + \frac{(y/b)^2}{\sum(x-x)^2}} \quad [9]$$

以上 Se 是回归直线[7]的剩余标准差; k 为回归直线的实验点数。

METHODS AND RESULTS

在有离体豚鼠心耳的浴槽内盛有 Krebs 液, 恒温 $37^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$, 通以 $95\% \text{O}_2$ 与 $5\% \text{CO}_2$, 加入一定浓度的异丙肾上腺素 (isoprenaline, Iso), 使豚鼠心率增加率为最大增加值的 90% 以上, 用 Krebs 液洗 3 次, 休息 15 min 后, 待心率复原至原水平, 加入普萘洛尔 (propranolol, Pro) 浓度 $0.01 \mu\text{mol/L}$, 5 min 后再加入原来浓度的 Iso 使心率再次增加, 然后再用 Krebs 液洗 3 次, 休息 15 min 后, 加入 Pro 浓度 $0.1 \mu\text{mol/L}$, 重复以上试验。以后再用 Pro 浓度 $1 \mu\text{mol/L}$ 重复 1 次。根据公式[6], 可由 Tab 1 的 $-\log[\text{Pro}]$ 对应 $\log(\text{OR}-1)$ 得回归直线方程: $y = 13.117 - 1.579x$, 再由公式[8]及[9]得 $pA_2 = 8.31$; $SE(pA_2) = 0.07$, 这个 Pro 拮抗 Iso 的 pA_2 与文献报道的估计值 $8.32 \pm 0.09^{(3)}$ 和 $8.35 \pm 0.04^{(4)}$ 基本一致。

Tab 1. Enhanced % maximal beat rates after isoprenaline $1 \mu\text{mol/L}$ in the absence/presence of propranolol (Pro) on isolated guinea pig auricles (data for estimating pA_2).

$-\log[\text{Pro}]$	Beat rates (max %)	$-\log(\text{OR}-1)$
0	92.4	—
8.0	75.6	0.4460
7.5	34.5	1.3440
7.0	10.2	2.0254

为了进一步说明等浓度效应法的可行性, 现将已有文献报道的等效应浓度法所用原始数据同时用等浓度效应法, 验证其两者的 pA_2 是否相符。Tab 2 是用离体兔心房试验⁽⁵⁾, 以氧烯洛尔 (oxpranolol, Oxp) 为拮抗剂, Iso 为激动剂, 观察指标为心率增加%, 应用已有等

效浓度法的电子计算机程序⁽⁶⁾ 得 Oxp 拮抗 Iso 的 $pA_2 = 8.27$; $SE(pA_2) = 0.04$ 。应用等浓度效应法仅需要 Tab 2 中以虚线框出的数据。相同于 Tab 1 的计算方法, 可得出 $pA_2 = 8.40$; $SE(pA_2) = 0.22$ 。如果应用两个 pA_2 差异的显著性检验⁽⁷⁾, $Z = 0.58$, 这说明两个 pA_2 的差别无显著性意义。

Tab 2. Enhanced % maximal heart rates after different concentrations of isoprenaline (Iso) in the absence/presence of oxpranolol on isolated rabbit atria.

$-\log[\text{Iso}]$	Oxpranolol ($\mu\text{mol/L}$)			
	0	0.01	0.1	1
8.5	8.8			
8.0	38.2	13.2		
7.5	76.1	35.2	8.8	
7.0	93.3	73.2	26.5	1.0
6.5		93.8	55.1	10.4
6.0			83.1	27.4
5.5				54.4
5.0				81.1

DISCUSSION

Arunlakshana 和 Schild 的等效应浓度法的优点是不依赖于公式[2]与[3], 它仅假定

$$E_A = f\left(\frac{[A]}{[A] + K_A}\right)$$

$$E_{AB} = f\left(\frac{[A]}{[A] + K_A(1 + [B]/K_B)}\right)$$

函数 f 的形式不拘。由本文提出的等浓度效应法必须以公式[2]与[3]为前提, 这与 Ariens 原来的要求相同。但值得感兴趣的是在式[2]与[3]的条件下, 等效应浓度比却与等浓度效应的比数比例相等, 即

$$[A]'/[A] = \frac{E_A(1 - E_{AB})}{E_{AB}(1 - E_A)} \quad [10]$$

以上等式左边不依赖于效应, 右边不依赖于浓度。即在 Fig 1 中, 不管等效应水平线(a)或等浓度垂直线(b)在什么位置上, 等式[10]恒成立。由于等效应浓度 $[A]$ 与 $[A]'$ 只能间接地由

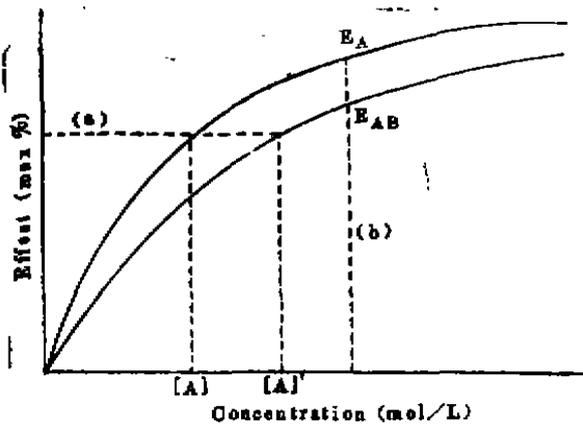


Fig. 1. Two concentration-effect curves in the absence (C_1) and presence (C_2) of an antagonist (The equi-effect concentrations ratio $[A]/[A]'$ and the equi-concentration effects E_A, E_{AB} are obtained from an arbitrary horizontal line (a) and an arbitrary vertical line (b) respectively. The equi-effect concentration ratio $[A]'/[A]$ is equal to the odds ratio of equiconcentration effects $E_A(1-E_{AB})/E_{AB}(1-E_A)$).

浓度-效应曲线中获得，这就使等效浓度法的应用较为复杂。应用等浓度效应法只要在固定的激动剂浓度下，应用数个递增的拮抗剂浓度以获得递减的效应百分率求 pA_2 。因此第 1 个对照的激动剂效应应在 90% 以上。如果剂量安排恰当，从一个离体标本即可获得求 pA_2 的全部资料。但应用等浓度效应法的缺点是不能从计算 pA_2 的资料中了解加入拮抗剂后的激动剂浓度-效应曲线是否平行右移。但在已知竞争性拮抗条件下，用等浓度效应法却要比等效

应浓度法简便得多。

为了弥补等浓度效应法的不足，可先由预初试验从两条相平行的浓度-效应曲线确定竞争性拮抗作用后，再由等浓度效应法求 pA_2 。由于实验过程大为缩短，则便于在精心的实验下得出较精确的结果，这就可能比应用等效浓度法获得更可靠的 pA_2 。

REFERENCES

- 1 Aruniakshana O, Schild HO. Some quantitative uses of drug antagonists. *Br J Pharmacol* 1959; 14 : 48
- 2 Ariens EJ. Affinity and intrinsic activity in the theory of competitive inhibition. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1954; 99 : 32
- 3 Barrett AM, Carter J, Fitzgerald JD, Hull R, Le Count D. A new type of cardioselective adrenoceptive blocking drug. *Br J Pharmacol* 1973; 48 : 340P
- 4 Baird JRC, Linnell J. The assessment of β -adrenoceptor blocking potency and cardioselectivity *in vitro* and *in vivo*. *J Pharm Pharmacol* 1972; 24 : 880
- 5 Mao YK, Yang ZC. Comparison of potencies of six beta-adrenoceptive blocking drugs in isolated rabbit atrium and guinea-pig trachea. *Acta Pharmacol Sin* 1980; 1 : 7
- 6 Xu DZ. Computerization in the pD_2 , pA_2 and pD_2 analysis. *Chin J Physiol Sci* 1987; 3 : 96
- 7 Xu DZ, Gong QY, Yang ZC. Relation between properties of adrenoceptors in mouse uterine smooth muscle and hormonal states. *Acta Pharmacol Sin* 1985; 6 : 117