



药物半数致死量 (LD_{50}) 测定

Determination of Median Lethal Dose of Drugs



基础医学国家级实验教学示范中心

南方医科大学 基础医学院 实验管理中心

药物毒理研究的必要性



- 1. 保障人体安全：**通过动物模型预判药物的急性、亚慢性、慢性毒性及特殊毒性（致癌、致畸、致突变、生殖毒性等），避免直接用于人体时引发不可逆损伤。
- 2. 指导临床用药：**明确剂量 - 毒性关系、靶器官毒性，为临床试验起始剂量设定、用药方案制定及临床监测指标选择提供依据。
- 3. 支撑合规研发：**是各国药品监管机构（NMPA、FDA、EMA 等）新药上市审批的法定要求，同时可早期筛除高毒性候选药物，降低研发成本与失败风险。

药物毒理学实验类型及目的



实验类型

核心目的

急性毒性实验

确定单次 / 24h 内多次给药毒性反应、**LD₅₀**、最大耐受剂量

亚慢性毒性实验

评估重复给药的蓄积毒性、靶器官损伤及毒性可逆性，明确安全剂量范围

慢性毒性实验

观察长期给药的慢性蓄积毒性，为临床长期用药安全性提供依据

致突变实验

检测药物是否诱发基因或染色体突变（遗传毒性）

生殖发育毒性实验

评估药物对雌雄生殖功能、胚胎发育、子代生长发育的影响

致癌实验

明确药物长期给药是否诱发肿瘤，适用于拟长期使用的药物

局部毒性实验

评估经皮肤 / 黏膜 / 眼局部给药的刺激性、腐蚀性、过敏性

急毒定量观察实验方法

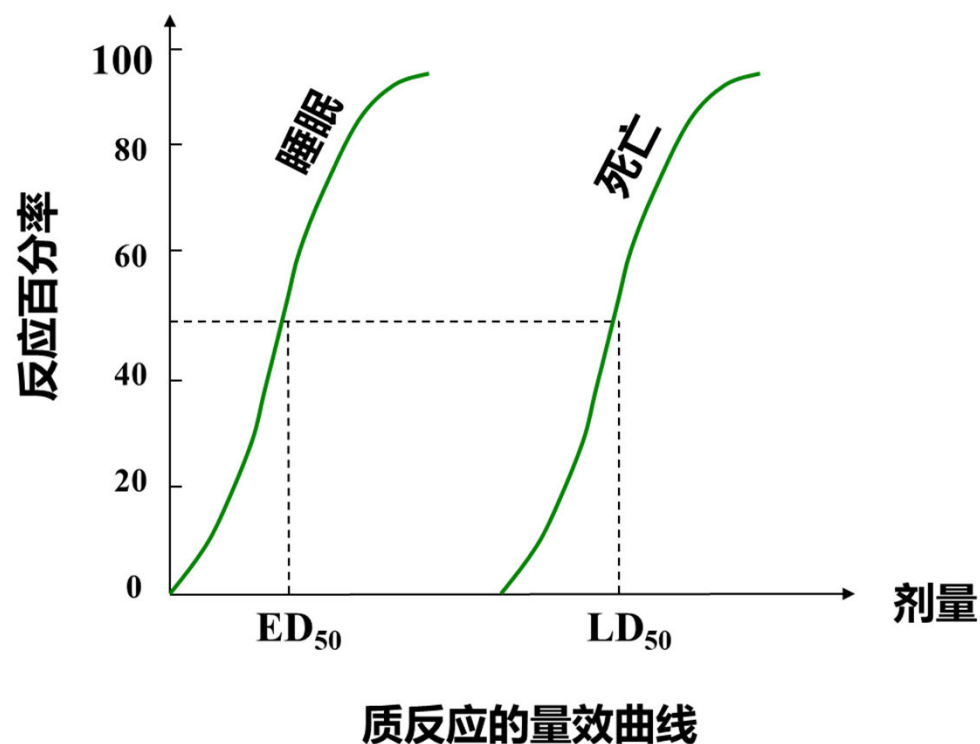


- **半数致死量法** (Median lethal dose, LD₅₀)
- **最大给药量法**
- **固定剂量法** (Fixed-dose procedure)
- **序贯法** (Up and Down Method)
- **近似致死剂量法** (Approximate Lethal Dose – ALD)
- **累积剂量设计法** (金字塔法, Pyramiding dosage design)

半数致死量(LD₅₀)



- 是指引起一半动物死亡的**药物剂量**。
- 用以评估化学物质的**急性毒性水平**
- 剂量反应关系曲线上，它处于曲线上升的中段，是致死率对剂量变化最敏感的部位。



LD₅₀测定（改良寇式法）



1、实验材料

- 实验动物：昆明小鼠80只，雌雄各半，体重20-25g
- 器材：电子秤，注射器等
- 药品：普鲁卡因

2、观察指标

- 以呼吸停止作为观察指标，记录各组24h内动物的死亡数。

LD₅₀测定 (改良寇式法)



3、实验步骤

预实验

(D_m 和 D_n 、公比 r 、分组组数 N 、配制等比药液)



正式实验

LD₅₀测定（改良寇式法）



3.1 预实验内容

小鼠20只，每组4只



宽剂量梯度（如 1:2/1:3 倍比）稀释普鲁卡因溶液，按照0.01mL/g体重 腹腔注射



找出0%和100%死亡剂量的所在范围



1) 预试0%及100%致死量 (D_n 、 D_m)

- 小鼠20只，每组4只
- 梯度稀释普鲁卡因溶液，配制成不同浓度的一系列药液
- 在预试中以0.1mL/10g.W腹腔注射
- 求出一次给药后24小时，死亡率为0%的最大剂量 (D_n) 和100%的最小剂量 (D_m)
- 找出0%和100%死亡剂量的所在范围。



2) 选择合理的剂量分组方案

- 经预试，测得 $Dm=262\text{mg/kg}$ 和 $Dn=161\text{mg/kg}$ ，即可在此剂量范围内，按下方公式计算各组剂量的公比（ r 或 $1/k$ ）及分组组数（ N ）：
- 公比 r 或 $1/k = \sqrt[N-1]{Dm/Dn}$
- 一般分组组数 N 取 5-7（按等比级数分）
- 一般 r 值多采取 1.2-1.5，不宜超过 1.1-1.6。
- 设本次实验分为6组（ $N=6$ ），经计算 $r=1.1$ ，故各组剂量依次为 Dm 、 Dm/r 、 Dm/r^2 、 Dm/r^3 、 Dm/r^4 、 Dm/r^5 。

3) 配制等比药液：等比系列稀释法



由预实验可知 $D_m=262\text{mg/kg}$, $D_n=161\text{mg/kg}$, $r=1.1$, $k=0.90$, 动物体重为 $20\pm 2\text{g}$, 每组10只, 总重为200g, 用药量为0.1mL/10g.W (腹腔)。

(1) **一号药液浓度** = 最高致死量 / 用药液量

$$= 262 \text{ (mg/kg)} / 10 \text{ (mL/kg)}$$

$$= 26.2 \text{ mg/mL} = 2.62\%$$

(2) **每组药液量** = 每组动物总重 \times 用药液量

$$= 200\text{g} \times 0.1\text{mL}/10\text{g.W}$$

$$= 2\text{mL} \text{ (为留有余地, 本例取3mL)}$$

(3) **一号药液需用量** = 每组药液量 / $(1 - k)$

$$= 3\text{mL} / (1 - 0.90) = 30\text{mL}$$

(4) 精确配制2.62%药液约30mL, 从中吸取3mL为一号液, 供第一组用药。

(5) **配二号药液**: 在余下的27mL一号液中加入生理盐水3mL, 混匀后吸出3mL为二号液, 依次类推, 配出一系列比值 $1:k$ ($1:0.9$)的药液。

LD₅₀测定 (改良寇式法)



3.2 正式实验

小鼠60只，随机分6组，10只/组，雌雄各半、称重



腹腔注射不同浓度的普鲁卡因，0.1mL/10g，剂量分别为

262、238、216、197、179、161 mg/kg



记录24h内各组的死亡数



统计结果、计算LD₅₀

LD₅₀测定（改良寇式法）



3.3 实验结果

- 记录小白鼠的死亡情况。
- 试验结果，最大剂量组的反应率最好等于或接近100%，最小剂量组的反应率最好等于或接近0，若有两个剂量出现100%或0%的反应率时，须将过大或过小的一剂量组剔除。
- 随后计算LD₅₀及其95%可信限。以药物剂量为横轴，小鼠死亡率为纵轴，在坐标纸上绘制普鲁卡因剂量与小鼠死亡率曲线。

LD₅₀测定（改良寇氏法）



组别	动物数 n	剂量 mg/kg	对数剂量 X	死亡率 P	死亡率平方 P^2
1	10	161.00	2.207	0.1	0.01
2	10	179.00	2.253	0.1	0.01
3	10	197.00	2.294	0.3	0.09
4	10	216.00	2.334	0.6	0.36
5	10	238.00	2.377	0.9	0.81
6	10	262.00	2.418(X_m)	1.0	1.00

1) X_m : 最大剂量组剂量的对数值; i : 相邻两组剂量高剂量与低剂量之比的对数

P : 各组动物的死亡率, 用小数表示; ΣP : 各组动物死亡率之和

2) 由实验结果可得: $X_m = 2.418$ $i = 0.042$ $\Sigma P = 3$ $\Sigma P^2 = 2.28$

3) 计算公式: $LD_{50} = \lg^{-1}[X_m - i(\Sigma P - 0.5)]$

标准误 $S_{x_{50}} = i [(\Sigma P - \Sigma P^2) / (n-1)]$

95% 可信限 $= LD_{50} \pm 4.5 LD_{50} \times S_{x_{50}}$

LD₅₀测定实验 学习要求



1. 理解LD₅₀测定预实验与正式实验流程、要点。
2. 根据PPT内LD₅₀计算公式和视频中的实验结果，计算本次实验测得的普鲁卡因LD₅₀、标准误、95%可信限数值。
3. 查阅资料，LD₅₀测定除了本实验介绍的改良寇氏法，还有其他什么方法，各有何优缺点？



机能实验学 课程内容学习资源

南方医科大学爱课平台

课程：机能实验学

<https://aike.smu.edu.cn/course/view.php?id=27>



微信二维码