

药物作用量-效关系的 Thiele 型连分式插值法分析

朱 涛¹ 赵前进² 李朝品³

(1.安徽理工大学 医学院,安徽 淮南 232001; 2.安徽理工大学 理学院,安徽 淮南 232001; 3.皖南医学院 医学寄生虫学教研室,安徽 芜湖 241002)

【摘要】目的: 提出 Thiele 型连分式插值法, 研究并建立新的量-效关系分析方法。方法: 以原卟啉钠(NAPP) 抑制人肝癌细胞株 SMMC-7721 细胞增殖的实验数据为例, 基于 Thiele 型连分式插值, 求出量-效关系表达式并绘制量-效曲线图; 预测最大抑制率, 计算半抑制浓度(half inhibitory concentration IC_{50}) 和半效浓度(half effective concentration EC_{50}) ; 求导并绘制导数图, 研究抑制率随药物浓度变化的快慢程度。结果: 通过 Thiele 型连分式插值法, 得出 NAPP 作用于 SMMC-7721 细胞 24、48、72 h 的量-效关系表达式, 预测不同时间下最大抑制率分别为 43.75%、55.97%、64.93%; EC_{50} 分别为 1.04 mg/L、0.36 mg/L、0.30 mg/L; 作用 48 h、72 h 后 IC_{50} 分别为 16.46 mg/L、8.26 mg/L。导数图表明 NAPP 浓度在 10 mg/L 内, 抑制率随浓度变化速度快, 药效不稳定; 大于 10 mg/L 后, 变化不明显, 药效稳定, 出现平台期。结论: Thiele 型连分式插值法简单、实用, 逼近效果好, 可作为研究药物量-效关系的一种新方法。

【关键词】原卟啉钠; SMM-7721 细胞; 量-效关系; 导数; 有理逼近; 连分式插值

【中图分类号】R 969 **【文献标识码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2016.05.002

Estimation of the drug dose-effect relationship by thiele-type continued fraction interpolation

ZHU Tao, ZHAO Qianjin, LI Chaopin

School of Medicine, Anhui University of Science and Technology, Huainan 232001, China

【Abstract】Objective: To design a thiele-type continued fraction interpolation for estimation of the dose-effect relationship of drugs. **Methods:** The experimental data on the inhibitive effect of protoporphyrin disodium(NAPP) on human hepatoma carcinoma strain of SMM-7721 cells in vitro were collected and thiele-type continued fraction interpolation was used to prepare the equation of dose-effect and plot the curves, and to estimate the maximum value of inhibition rate. Half inhibitory concentration(IC_{50}) and half effective concentration(EC_{50}) were computed, and the derivative was driven and the derivative graph was developed for examining changes of inhibition rate with the level of NAPP. **Results:** Thiele-type continued-fraction interpolation obtained the equation of dose-effect relationship pertaining to the inhibitive effect of NAPP on SMM-7721 cells at 24, 48 and 72 h, and prediction of the maximum value of inhibition rate at the corresponding time point by 43.75%, 55.97% and 64.93%, respectively. The EC_{50} was 1.04 mg/L, 0.36 mg/L and 0.30 mg/L; and IC_{50} at 24-hour and 48-hour, 16.46 mg/L and 8.26 mg/L. The derivative graph indicated that the inhibition rate changed with NAPP concentration at 10 mg/mL, yet the drug effect appeared unstable. The variation was not significant, and the drug effect remained stable and in plateau derivative as the NAPP concentration excelling 10 mg/L. **Conclusion:** Thiele-type continued-fraction interpolation is simple, practical and effective, with a good approximation effect in comparison with other algorithms, and can be used as a new method for the study of dose-effect relationship of drugs.

【Key words】 protoporphyrin disodium; SMM-7721 cell; dose-effect relationship; derivative; rational approximation; continued fraction interpolation

药物作用量-效关系是评价药物药效的重要参考指标^[1], 而这种量-效关系多表现为非线性特征, 研究者常用计算机软件中的数学模型对实验数据进行非线性曲线拟合, 这些模型利用诸如最小二乘法等原理^[2]的逼近效果, 得到拟合曲线方程, 以此帮助

研究量-效关系。在实际研究中, 有些非线性回归模型过于复杂, 利用它求解方程困难, 如常用的 logis-tics 数学模型等^[3]; 还有些模型因参数难以估计, 不能化为线性回归模型进行简便处理。因此, 本研究基于 Thiele 型连分式插值^[4-6]建立简单的有理函数

基金项目: 国家自然科学基金项目(60973050); 安徽省高校省级自然科学基金项目(KJ2008A099)

收稿日期: 2016-05-04

作者简介: 朱 涛(1979-), 男, 讲师, 硕士, (电话) 13956455583, (电子信箱) kwk@ aust.edu.cn;

李朝品, 男, 教授, (电子信箱) cpli001@ 126.com, 通信作者。

分析方法,提出一种运算便捷、逼近效果^[7]好的新方法,来研究量-效关系的非线性特征。现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 资料 依据文献[8]从猪血中提取原卟啉钠(protoporphyrin disodium ,NAPP) ,采用 MTT 比色法,依据不同浓度 NAPP 在 24、48、72 h 抑制人肝癌细胞株 SMMC-7721 细胞增殖的实验研究结果^[8],见表 1。

表 1 不同浓度 NAPP 作用不同时间后对 SMMC-7721 细胞增殖抑制率的影响

NAPP 浓度 /(mg/L)	作用 24 h 抑制率/%	作用 48 h 抑制率/%	作用 72 h 抑制率/%
0.01	8.41	11.02	18.99
0.1	12.30	19.06	25.84
1	21.68	34.58	39.39
10	34.14	47.61	51.15
100	42.23	54.69	62.10

1.2 方法

1.2.1 Thiele 型连分式插值法 设点集 $X = \{ x_0, x_1, \dots, x_n \} \subset [a, b]$ 函数 $f(x)$ 在 $[a, b]$ 上有定义。X 上的 Thiele 型连分式插值为:

$$R_n(x) = \varphi[x_0] + \frac{x-x_0}{\varphi[x_0, x_1]} + \frac{x-x_1}{\varphi[x_0, x_1, x_2]} + \dots + \frac{x-x_{n-1}}{\varphi[x_0, x_1, \dots, x_n]}$$

其中 $\varphi[x_0, x_1, \dots, x_k]$ 为 $f(x)$ 在 x_0, x_1, \dots, x_k 处的 k 阶逆差商,递推定义如下:

$$\varphi[x_p] = f(x_p) \quad p=0, 1, \dots, n,$$

$$\varphi[x_p, x_q] = \frac{x_q - x_p}{\varphi[x_q] - \varphi[x_p]}, \quad \varphi[x_0, x_1, \dots, x_k] = \frac{x_k - x_{k-1}}{\varphi[x_0, \dots, x_{k-2}, x_k] - \varphi[x_0, x_1, \dots, x_{k-1}]}$$

上述有理插值函数 $R_n(x)$ 是分子次数为 $[\frac{n+1}{2}]$

且分母次数为 $[\frac{n}{2}]$ 的有理函数。

设定 x 轴为药物浓度, y 轴为抑制率,利用 Thiele 型连分式插值,求得有理插值函数作为量-效关系表达式。当 n 变大时,会导致函数 $R_n(x)$ 振荡加剧,同时使舍入误差的扩散加剧^[9-10]。另外,当 n 选择为奇数时,有理插值函数的分子分母多项式次数相同,才可能有水平渐近线,符合药物作用量-效关系曲线应有的特征。因此,本研究中选择 $n=5$ 。

1.2.2 其他数据处理方法 运用 Maple17.0,运行 Thiele 型连分式插值命令语句,求量-效关系有理函数表达式;依据量-效关系有理函数表达式,运用 Matlab8.0 绘制量-效关系曲线图、导数图;使用 Maple17.0 计算表达式,求解量-效关系相关参数,如最大极限值、半抑制浓度(IC_{50}) 和半效浓度(EC_{50})。

2 结果

2.1 NAPP 抑制 SMMC-7721 细胞增殖的量-效关系表达式 ①作用 24 h 后,依据不同的药物浓度及对应的抑制率,得到五个插值点,分别为 (0.01, 8.41%)、(0.1, 12.30%)、(1, 21.68%)、(10, 34.14%)、(100, 42.23%),得到量-效关系表达式:

$$y = 0.0841 + \frac{x-0.01}{2.313624679 + 0.1748655149 \frac{x-1}{x-1}} + \frac{5.599990434x + 37.48385638}{x-1}$$

②作用 48 h 后,同法得到五个插值点,分别为 (0.01, 11.02%)、(0.1, 19.06%)、(1, 34.58%)、(10, 47.61%)、(100, 54.69%),得到量-效关系表达式:

$$y = 0.1102 + \frac{x-0.01}{1.119402985 + 0.2919580765 \frac{x-1}{x-1}} + \frac{6.348126712x + 40.99028558}{x-1}$$

③作用 72 h 后,同法得到五个插值点,分别为 (0.01, 18.99%)、(0.1, 25.84%)、(1, 39.39%)、(10, 51.15%)、(100, 62.10%),得到量-效关系表达式:

$$y = 0.1899 + \frac{x-0.01}{1.313868613 + 0.2543039126 \frac{x-1}{x-1}} + \frac{4.875693611x + 65.93062709}{x-1}$$

2.2 量-效关系曲线图 根据 24、48、72 h 量-效关系表达式,绘制 NAPP 抑制 SMMC-7721 细胞增殖的量-效曲线,如图 1 所示。

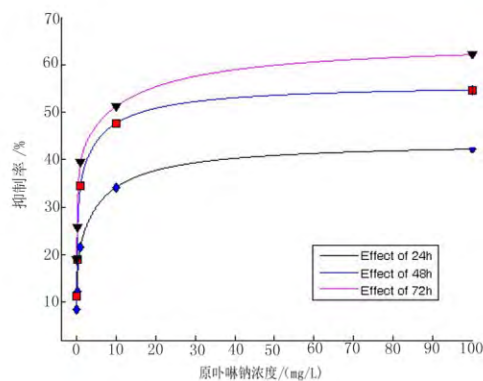


图 1 不同时间 NAPP 抑制 SMMC-7721 细胞增殖量-效曲线

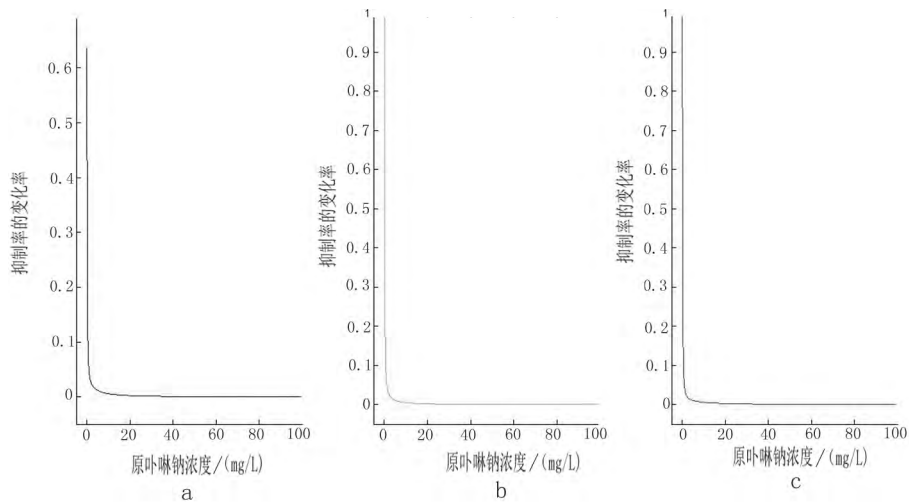
2.3 相关参数计算 ①最大抑制率(EC_{max}): 令 $x \rightarrow$

+∞ ,对上述 2.1 中的各表达式取极限 ,计算出 NAPP 作用 SMMC-7721 细胞 24、48、72 h 后,EC_{max} 分别为 43.75% ,55.97% ,64.93% ,图 1 中可见。② IC₅₀ 与 EC₅₀: 令抑制率 $y = 50%$,计算 NAPP 作用 SMMC-7721 细胞 48、72 h 后的表达式 ,得出 IC₅₀ 分别为 16.46 mg/L、8.26 mg/L。分别与 SPSS、曲线回归法的计算结果比较 ,见表 2。令抑制率 $y = 50% \times EC_{max}$,计算 NAPP 作用 SMMC-7721 细胞各时段的表达式 ,得出 EC₅₀ 分别为 1.04 mg/L、0.36 mg/L、0.30 mg/L。

表 2 三种方法对半数抑制浓度计算的结果 mg/L

作用时间	Thiele 型 连分式插值法	曲线回归法	SPSS(95%置信限度)
24 h	-	264.0	274.21(73.21~2579.58)
48 h	16.46	24.0	24.86(10.18~86.89)
72 h	8.26	9.0	9.05(3.67~30.14)

2.5 导数图 根据各量-效关系表达式 ,求得得出 SMMC-7721 细胞增殖抑制率对 NAPP 浓度的导数 ,即变化率 绘制二者之间的导数图 如图 2 所示。



a.Effect of 24 h; b.Effect of 48 h; c.Effect of 72 h
图 2 NAPP 浓度-抑制率变化率的导数图

3 讨论

3.1 量-效曲线表达式简单 ,逼近程度高 ,预测结果可信度高 本研究采用的 Thiele 型连分式插值法是一种简单的有理函数方法 ,利用其分析药物作用量-效关系为非线性关系 ,可进行理论分析和预测分析 ,如在对比研究 IC₅₀ 结果时 ,发现 NAPP 作用 SMMC-7721 细胞 24 h 后 ,预测抑制率最大值仅 43.75% ,未能达到 IC₅₀ ,与许金鹏等研究结果不同 ,见表 2。而基于统计学方法的常用分析法在进行 Probit 分析时 ,使用概率或 Logit 数学模型 ,不能准确分析出各时段的最大效应值 ,使得在该模型分析下 ,最大效应都是 100% ,此时 IC₅₀、EC₅₀ 结果相等 ,可见其分析偏差大。另外 ,Probit 分析的结果是估计值 ,逼近效果一般。所以在预测各时段 NAPP 最大抑制率的前提下 ,本方法可准确分析量-效关系 ,逼近实验结果程度高 ,计算 IC₅₀、EC₅₀ 结果更真实。

3.2 量-效关系曲线图与导数图 从图 1 中的量-效曲线图可见 ,不同浓度 NAPP 作用不同时间 ,其抑制率与浓度呈正比关系 ,量-效曲线呈先陡后平形态 ,

在顶部均呈水平状态 ,此时浓度增加 ,但抑制效果不再有显著变化 ,符合量-效曲线特征^[11]。另外 ,图 1 中的量-效曲线准确通过各实验数据点 ,保证了实验数据的原始特征 ,如实反映每个点上的曲线特征 ,它模拟了药物浓度与抑制率量-效关系变化的全过程 ,反映 NAPP 抑制肝癌细胞增殖的量-效关系。

导数图可直观的反映药物浓度与抑制率之间的变化率 ,导数曲线越接近零 ,表示药物浓度与抑制率量-效关系变化越稳定。由图 2 可见 ,作用不同时间后 ,NAPP 浓度在 10 mg/L 内 ,抑制率变化幅度大 ,药效变化显著 ,不稳定。10 mg/L 之后 ,变化率趋近于 0 ,几乎与横坐标重叠 ,表明药效稳定 ,药物浓度增加 ,抑制效果变化不显著。因此 ,导数图为药物浓度的选择量提供可靠的参考依据。

3.3 存在的问题 在使用连分式插值法作逼近时 ,可能会出现 $R_n(x)$ 在插值区间内有极点^[12]的情况 ,此时预测结果可能会出现较大误差 ,这种情况下本方法将不再适用。因此 ,极点问题的处理也是今后本研究需要继续深入讨论的问题。

4 结论

在药物研究领域,目前常用概率单位法^[13]、线性回归法^[14]、曲线拟合等方法来研究非线性量-效关系,但这些方法使用较为复杂,且条件限制较多,实验数据在线性与非线性的转换过程中,不能保存原始数据的变化特征,丢失各数据点的曲线特征,同时,使用统计学方法处理数据量较少的实验数据,会导致估算误差较大。因此,采用 Thiele 型连分式插值法分析药物作用量-效关系,不仅逼近程度高,而且更是一种运算简单、效果显著且易于掌握的新方法。

【参考文献】

- [1] 吕圭源.药理学[M].北京:中国中医药出版社,2009:7.
- [2] 肖爱玲.非线性最小二乘法的算法[J].数学理论与应用,2004,24(2):86-90.
- [3] 顾兵,张政,李玉萍,等.半数致死剂量及其计算方法概述[J].中国职业医学,2009,36(6):506-511.
- [4] 檀结庆.连分式理论及其应用[M].北京:科学出版社,2007:30-120.

(上接第413页)

本实验采用脑内双核团细胞外记录和多项生理指标同步记录技术,既可检测在伤害性刺激时脑内痛感觉代表区和痛情绪代表核团的放电频率,还能将反映情绪反应的多项生理指标进行同步分析,构成了痛觉的综合性心理生理学记录和分析系统^[6-7]。结果表明,模型组大鼠 BLA 的基础放电频率高于对照组,DZ 无显著差异。可以看出,与痛情绪相关的核团 BLA 的兴奋性增高。而在对于热刺激的反应中,对照组 BLA 反应后放电频率恢复,而模型组 BLA 反应后并未恢复,频率仍较刺激前高。这表明,神经病理性疼痛大鼠在热刺激时诱发了 BLA 更为长时程的放电反应。与之相应的是对照组中,热刺激后大鼠心跳加快后又恢复,而在模型组中,热刺激心率均未完全恢复。由此推测热刺激引起了神经病理性疼痛大鼠更为强烈及持久的痛情绪反应。而在夹尾刺激引起的反应中,两组大鼠反应时 BLA、DZ 放电频率较刺激前有明显增加,模型组 BLA 放电频率变化率高于对照组,DZ 放电变化率则相似。这表明糖尿病神经病理性疼痛大鼠在夹尾刺激时更易诱发明显的 BLA 放电变化。据此推测,在大鼠糖尿病神经病理性疼痛中,处理痛情绪的中枢对刺激可能更加敏感,反应时间也 longer。

【参考文献】

- [5] LU DAWEI, SONG ZEXI. Some new continued fraction estimates of the Somos' quadratic recurrence constant [J]. Journal of Number Theory, 2015, 155(10): 36-45.
- [6] LISA LORENTZEN. A convergence theorem for random continued fractions [J]. Journal of Approximation Theory, 2015, 197(9): 1-8.
- [7] 朱功勤,顾传青,檀结庆.多元有理逼近方法[M].北京:中国科学出版社,2007:10-91.
- [8] 许金鹏,张慧慧,李朝品,等.原卟啉钠体外对人肝癌细胞株 SMMC-7721 细胞的抑制作用[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(18):173-178.
- [9] 李庆扬,王能超,易大义.数学分析[M].5版.北京:清华大学出版社,2008:79-81.
- [10] 周志丹.回归函数的有理逼近模型分析与研究[J].数学的实践与认识,2004,34(7):113-117.
- [11] 杨宝峰.药理学[M].8版.北京:人民卫生出版社,2013:22-24.
- [12] 项赞飏.构造矩阵有理插值函数降阶的方法[J].合肥工业大学学报(自然科学版),2010,33(8):1277-1280.
- [13] 赵劲松,于书霞.利用概率单位法估算 EC50 的研究[J].生态毒理学报,2010,5(3):421-425.
- [14] 李翠萍,吴民耀,王宏元.3种半数致死浓度计算方法之比较[J].动物医学进展,2012,33(9):89-92.

- [1] 韩济生.疼痛学[M].北京:北京大学出版社,2012:2-61.
- [2] BALIKI MN, BARIA AT, APKARIAN AV. The cortical rhythms of chronic back pain [J]. J Neurosci, 2011, 31(39): 13981-13990.
- [3] 周强,李起鸿,杨柳,等.大剂量糖皮质激素诱导兔股骨头坏死的研究[J].第三军医大学学报,2000,22(3):249-252.
- [4] COURTEIX C, ESCHALIER A, LAVARENNE J. Streptozocin-induced diabetic rats: behavioural evidence for a model of chronic pain [J]. Pain, 1993, 53(1): 81-88.
- [5] 王群,王清秀,冉然,等.糖尿病神经病理性痛大鼠模型的制备[J].邵阳医学院学报,2009,28(3):240-243.
- [6] 汪伟伟,刘菊,蒋雪丽,等.不同伤害性刺激致大鼠痛感觉与痛情绪的比较[J].生命科学研究,2014,18(5):411-417.
- [7] 刘伟,汪伟伟,黄军,等.大鼠脑内双核团电活动与多项生理指标的同步记录技术[J].皖南医学院学报,2013,32(5):423-429.
- [8] 王太成,任大力,陈启龙.链脲佐菌素诱导 1 型糖尿病大鼠模型方法改进[J].新疆医科大学学报,2010,33(5):499-500.
- [9] 郭学军,邹移海,吴凌,等.链脲佐菌素诱导 1 型糖尿病大鼠模型的影响因素探讨[J].动物医学进展,2008,29(4):1-5.
- [10] 蒋升,谢自敬,张莉.链脲佐菌素诱导 1 型糖尿病大鼠模型稳定性观察[J].中国比较医学杂志,2006,16(1):16-18.
- [11] QUATTRINI C, TESFAYE S. Understanding the impact of painful diabetic neuropathy [J]. Diabetes Metab Res Rev, 2003, 29(Suppl 1): s2-8.
- [12] COURTEIX C, BARDIN M, CHANTELAUZE C, et al. Study of the sensitivity of the diabetes-induced pain model in rats to a range of analgesics [J]. Pain, 1994, 57(2): 153-160.
- [13] FOX A, EASTWOOD C, GENTRY C, et al. Critical evaluation of the streptozotocin model of painful diabetic neuropathy in the rat [J]. Pain, 1999, 81(3): 307-316.