

# 论 LINEWEAVER-BURK 直线化公式的应用

金正均 (上海第二医学院药理教研室, 上海)

**提要** Michaelis-Menton 式及其直线化 Lineweaver-Burk (L-B) 式是受体动力学基本公式。本文利用数学模型证明 L-B 式对低反应误差极其敏感, 而 L-B 式的变相即量效比式对误差敏感性较低, 无需转换即能利用原始数据进行运算。实验数据的计算证明量效比式的动力学参数——最大效应及解离常数——的绝对误差较 L-B 式为小。量效比式值得推广。

**关键词** Lineweaver-Burk 公式; Michaelis-Menton 公式; 直线化; 受体动力学; 量效比; 解离常数 ( $K_A$ ); 最大效应 ( $E_{A \max}$ )

历来在受体动力学的研究中, 基于质量作用定律的 Michaelis-Menton (M-M) 式受到重视<sup>(1,2)</sup> 而其 Lineweaver-Burk 直线化公式则见于一切有关药理及生化书刊中<sup>(3,4)</sup>。然而数十年来, 未见该直线化公式广泛应用于药理研究。我们实验室的经验不止一次地证明 L-B 式极难适用于实验原始数据。Riggs 声称必须加权后应用<sup>(5)</sup>, 但并未提出怎样加权法。

L-B 式有另一种变相式, 可称为量效比式 (Dose Response Ratio, D/R 式), 见下:

$$\frac{[A]}{E_A} = \frac{K_A}{E_{A \max}} + \frac{1}{E_{A \max}} \cdot [A]$$

式中  $[A]$  代表药物 A 的浓度或剂量;  $E_A$  乃  $[A]$  所产生的反应;  $K_A$  是 A 的解离常数,  $E_{A \max}$  是药物 A 的最大反应。可见此式乃是求剂量  $[A]$  与量效比  $\left(\frac{[A]}{E_A}\right)$  之关系。此式早经文献介绍<sup>(4,5)</sup>, 然未见广泛采用, 更未见其与 L-B 原式之比较。

本研究旨在探究 L-B 式未能广泛应用的原因, 并证明 D/R 式较 L-B 式优越。

## 方法与结果

利用小型电子计算器, 包括可加程序的计

算器, 用线性回归方程求出截距  $a$ , 斜率  $b$  等参数。

### 一、排出理论式及定假想数据

按 M-M 式, 可得:

$$E_A = \frac{[A]}{K_A + [A]} \quad [1]$$

按 [1] 式, 排出  $[A]$  与  $E_A$  的关系表 (见表 1)

表 1 剂量或浓度  $[A]$  与相应的理论期望效应  $E_A$

$[A]$ 剂量	$E_A$ 效应
0.01 $K_A$	0.01
0.1 "	0.09
0.2 "	0.17
0.5 "	0.33
1.0 "	0.50
2.0 "	0.67
3.0 "	0.75
5.0 "	0.83
8.0 "	0.89
10.0 "	0.91
15.0 "	0.94
20.0 "	0.95
30.0 "	0.97
100.0 "	0.99

二、再设  $K_A$  为  $1.045 \mu\text{mol/ml}$ , 按表 1 得一系列假想数据, (见表 2)

三、依次改变  $E_A$ , 使  $\Delta E_A$  为增加 10% 或减少 10%。每次仅改动一个数据。用 L-B 式求出各  $a, b$  及  $r^2$  (可决系数)。

表 2 按 M-M 式之想像数据

[A] 剂 量 $\mu\text{mol}/\text{ml}$	$E_A$ (%) 效 应
0.1	8.73
0.3	22.30
1.0	48.90
3.0	74.16
10.0	90.54
30.0	96.63

四、再按 D/R 式重复上述过程。结果见表 3。

表 3 改变效应  $\pm 10\%$  时 (模拟误差),  
L-B 式及 D/R 式运算结果的比较  
 $\Delta$  意即增量(变化) (详见附录)

[A] $\mu\text{mol}/\text{ml}$	$\Delta E_A$ %	L-B 式		D/R 式	
		$\Delta K_A$ %	$\Delta E_{A \max}$ %	$\Delta K_A$ %	$\Delta E_{A \max}$ %
0.1	+10	-16.74	-7.59	-2.56	-0.11
	-10	+24.59	+11.11	+3.13	+0.13
0.3	+10	+5.51	+5.96	-2.98	-0.13
	-10	-5.94	-6.47	+3.65	+0.15
1.0	+10	+4.51	+4.13	-4.33	-0.16
	-10	-5.09	-4.70	+5.40	+0.25
3.0	+10	+3.32	+2.96	-7.77	-0.24
	-10	-3.81	-3.43	+9.58	+0.30
10.0	+10	+2.82	+2.49	-1.63	+4.00
	-10	-3.26	-2.92	+14.44	-0.43
30.0	+10	+0.97	+0.85	+11.75	+3.59
	-10	-3.09	-2.76	-33.58	-10.27

## 讨 论

一、D/R 式也是直线化公式, 见下:

1. L-B 式:

$$\frac{1}{E_A} = \frac{1}{E_{A \max}} + \frac{K_A}{E_{A \max}} \cdot \frac{1}{[A]} \quad [2]$$

以  $Y_1 = \frac{1}{E_A}$ ,  $X_1 = \frac{1}{[A]}$ , 则上式呈直线关系,

$$Y_1 = a_1 + b_1 x_1. \quad \text{截距 } a_1 = \frac{1}{E_{A \max}},$$

斜率  $b_1 = \frac{K_A}{E_{A \max}}$ 。通过直线回归, 求得

$a, b$  以后, 即可简便算出  $E_{A \max}$  及  $K_A$ 。

$$E_{A \max} = \frac{1}{a_1}, \quad K_A = \frac{b_1}{a_1}$$

2. D/R 式:

$$\frac{[A]}{E_A} = \frac{K_A}{E_{A \max}} + \frac{1}{E_{A \max}} \cdot [A] \quad [3]$$

以  $y_2 = \frac{[A]}{E_A}$ ,  $x_2 = [A]$ , 也呈直线关系

$$y_2 = a_2 + b_2 x_2$$

$$\text{此时 } E_{A \max} = \frac{1}{b_2}, \quad \text{而 } K_A = \frac{a_2}{b_2}$$

虽然两式均完全符合线性方程之通式:  $y = a + bx$ , 然而, 计算之繁简程度大不一样。在 L-B 式, 必须将剂量及效应倒之, 而 D/R 式则可直接应用。

二、L-B 原式之弱点, 由表 3 可见, 乃是对低效误差极其敏感。最小效应降低 10%, 造成  $K_A$  上升几乎 25%, 而 D/R 式则仅上升 3.13%。就最大效应来说, L-B 式此时导致上升 11.11%, 而 D/R 式则仅上升 0.13%。可见用 D/R 式时,  $K_A$  及  $E_{A \max}$  受误差影响较少。在 L-B 式, 由于  $K_A$  剧变, 以致直线之截距与 Y 轴相交于负值区域, 所得数据无法利用。这也是将 L-B 原式用于原始数据时最常见的情况。

三、D/R 式对高反应误差相当敏感 (见表 3)。然而在实际应用中却极少会出现此种情况。这主要有两个原因: 一是在大反应时测量容易, 误差较小, 二是在峰作用附近时, 数据自动稳定于 100% 左右 (见表 4a)。结果是 D/R 式在实际应用中保持良好的、高反应数据 (见表 4b, 4c)。

四、L-B 原式因系双倒数式, 故在最小二乘方运算时小数据变大数据, 发生了误差失真放大现象。D/R 式则无此弊端, 是因其耐受误差的性能比 L-B 原式好得多。

五、为了证明 D/R 式之优越性, 将一组实验数据用两种公式运算以资比较 (见表 4a—c)。表中可见 D/R 式之误差小于 L-B 式者。

表 4a 某次实验实测数据(修正值)

[A] μmol/ml	$E_A$ (%)	[A]/ $E_A^*$
0.1	8	12.50
0.3	16	18.75
1.0	52	19.23
3.0	87	34.49
10.0	95	105.26
30.0	100	300.00

\* 为计算方便, 将[A]×1000 计算。

表 4b 两种公式运算结果

公式	截距 $a$	斜率 $b$	$r^2$	$K_A$	$E_{A \max}$
L-B	1.068	1.180	0.982	1.106	0.937
D/R	1.054	0.962	0.999	1.096	1.040

注 1 以最佳符合之  $K_A$ (1.045) 为标准注 2 注意 D/R 式之  $r^2$  0.999 比 L-B 式之  $r^2$  要好

表 4c 两种公式误差的比较

公 式	$E_{A \max}$ 误差	$K_A$ 误差
L-B	-6.33 %	+5.81 %
D/R	+3.95 %	+4.83 %

## 结 语

一、本研究利用 Michaelis-Menton 公式, 定出想象数据, 利用线性回归方程, 求出

Lineweaver-Burk 直线化公式及其变相式(量效比式, D/R 式)之间的差别。结果显示 L-B 式对低反应误差非常敏感, 从而推测此点可能是该式实际罕用于药理试验结果的原因之一。

二、本研究证明 D/R 式(量效比式)得出数据误差较小(尤其  $E_{A \max}$ ), 适用于大多数求  $K_A$  及  $E_{A \max}$  的场合。

## 参 考 文 献

- 1 Triggler DJ. Receptor theory. In: Smythies JR, Bradley RJ, eds. *Receptors in Pharmacology*. 1st ed. New York: Marcel Dekker, 1978: 1-66
- 2 Van den Brink FG. General theory of drug-receptor interactions, drug-receptor interaction models, calculation of drug parameters. In: Van Rossum JM, ed. *Kinetics of Drug Action*. 1st ed. Berlin: Springer, 1977: 169-254
- 3 金正均. 药物和受体反应的动力学. 张昌绍、张毅主编. 药理学, 第1卷. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 1965: 24-60
- 4 Piskiewicz D. *Kinetics of chemical and enzyme-catalyzed Reactions*. 1st ed. New York: Oxford University Press, 1977: 87
- 5 Riggs DS. *The Mathematical approach to physiological problems*. 1st ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1963: 59

## 附 录

附 1 想像数据

[A]	$E_A$ (%)	[A]/ $E_A$	[A]/( $E_A + 10\%$ )	[A]/( $E_A - 10\%$ )
0.1	8.7336	0.0114500	0.0104091	0.0127222
0.3	22.30	0.0134529	0.0122299	0.0149476
1.0	48.90	0.0204498	0.0185908	0.0227221
3.0	74.16	0.0404530	0.0367755	0.0449478
10.0	90.54	0.1104484	0.1004076	0.1227204
30.0	96.63	0.3104625	0.3000000	0.3449584

## 附 2 按 Lineweaver-Burk 式

$$\frac{1}{E_A} = \frac{1}{E_{A \max}} + \frac{K_A}{E_{A \max}} \cdot \frac{1}{[A]}$$

的运算结果表:

[A] μmol/ml	ΔE <sub>A</sub> %	a <sub>1</sub>	b <sub>1</sub>	r <sup>2</sup>	K <sub>A1</sub>	K <sub>A1</sub> /K <sub>A</sub>	E <sub>A max</sub>
		1.000160	1.045011	1.000000	1.0448438*	1.0000000	0.999840
0.1	+10	1.08210	0.94146	0.998640	0.8700304	0.8325649	0.9241290
	-10	0.90000	1.17160	0.998701	1.3017777	1.2459065	1.1111111
0.3	+10	0.9437	1.04035	0.998341	1.1024160	1.0551012	1.0596588
	-10	1.069137	1.050713	0.997552	0.9827674	0.9405878	0.9353338
1.0	+10	0.960294	1.048611	0.999665	1.0919687	1.0451023	1.0413477
	-10	1.049316	1.040559	0.999496	0.9916545	0.9490936	0.9530018
3.0	+10	0.971211	1.048464	0.999860	1.0795429	1.0332099	1.0296424
	-10	1.035543	1.040790	0.999789	1.0050669	0.9619303	0.9656769
10.0	+10	0.975685	1.048149	0.999908	1.0742698	1.0281631	1.0249209
	-10	1.030074	1.041175	0.999861	1.0107769	0.9673952	0.9708040
30.0	+10	0.991584	1.046131	0.999989	1.0550099	1.0097257	1.0084874
	-10	1.028439	1.041316	0.999879	1.0125209	0.9690643	0.9723474

\* 此值即是 K<sub>A</sub>

## 附 3 依量效比式的运算结果

$$\frac{[A]}{E_A} = \frac{K_A}{E_{A \max}} + \frac{1}{E_{A \max}} \cdot [A]$$

$$a_2 = 1.045010 \quad b_2 = 1.000036 \quad r^2 = 1.0000 \quad K_A = 1.0449723$$

[A] μmol/ml	ΔE <sub>A</sub> %	a <sub>2</sub>	b <sub>2</sub>	r <sup>2</sup>	K <sub>A1</sub>	K <sub>A1</sub> /K <sub>A</sub>	E <sub>A max</sub>
0.1	+10	1.019411	1.001151	0.999988	1.0182390	0.9744172	0.9988503
	-10	1.076297	0.998673	0.999982	1.0777271	1.0313178	1.0013287
0.3	+10	1.015198	1.001310	0.999983	1.0138689	0.9702103	0.9986917
	-10	1.081444	0.998479	0.999975	1.0830913	1.0364510	1.0015233
1.0	+10	1.001403	1.001657	0.999961	0.9997464	0.9566951	0.9983457
	-10	1.098672	0.997902	0.999941	1.1014233	1.0539936	1.0025042
3.0	+10	0.966149	1.002410	0.999841	0.9638261	0.9223217	0.9975975
	-10	1.141692	0.997010	0.999760	1.1451158	1.0958046	1.0029989
10.0	+10	0.988368	0.961512	0.999379	1.0279310	0.9836660	1.0400286
	-10	1.201055	1.004336	0.998482	1.1958697	1.1443729	0.9956827
30.0	+10	1.127369	0.965342	0.999856	1.1678441	1.1175542	1.0359023
	-10	0.773392	1.114428	0.998821	0.6940458	0.6641586	0.8973237

## 附 4 D/R 式与 L/B 式的关系: 在原 L-B 式双侧, 乘以 [A] 即得 D/R 式, 如下:

$$\text{原 L-B 式: } \frac{1}{E_A} = \frac{1}{E_{A \max}} + \frac{K_A}{E_{A \max}} \cdot \frac{1}{[A]}$$

双侧乘以 [A]

$$\frac{[A]}{E_A} = \frac{[A]}{E_{A \max}} + \frac{K_A}{E_{A \max}} \cdot \frac{[A]}{[A]} = \frac{K_A}{E_{A \max}} + \frac{[A]}{E_{A \max}} = \frac{K_A}{E_{A \max}} + \frac{1}{E_{A \max}} \cdot [A]$$

此即 D/R 式

## LINEAR TRANSFORMATION OF MICHAELIS-MENTON EQUATION BY LINEWEAVER-BURK'S METHOD

JIN Zheng-jun (T K King)

*(Department of Pharmacology, Shanghai Second Medical College, Shanghai)*

**ABSTRACT** Mathematical model analysis has demonstrated that the original Lineweaver-Burk equation is very sensitive to low response errors, hence its exacting characteristic may be explained. A modified version of the L-B formula, the dose response ratio method, having the advantage of obviating the double reciprocal, is devoid of the error amplification due to the least square procedure. Results of comparative computation of some experimental data by

these 2 equations showed that the error due to the dose response ratio formula was smaller than that obtained in using the usual L-B method. The dose response ratio method is therefore recommended in calculating the receptor dynamics parameters ( $E_{A \max}$  and  $K_A$ ).

**KEY WORDS** Lineweaver-Burk equation; Michaelis-Menton equation; linearization; receptor dynamics; dose response ratio; dissociation constant ( $K_A$ ); maximal effect ( $E_{A \max}$ )