

心血管药药效学技术要求 (试 用 稿)

←→

中国药理学会心血管药理分会 编印
国家医药管理局新药研究管理中心

一九九一年四月

前 言

为适应新药研究与开发的需要，受卫生部药审办委托，1988年中国心血管药理学会起草了心血管药药效学技术要求。初稿完成后，于1988年秋在广州举办第一次研讨班，进行修改。1989年在武汉开办了第二次讨论会和学习班，进行再次修改。又于1991年3月25日--27日在卫生部召集的会议上，交专家讨论。此系进行第三次修改稿，作为学习班讲义发给大家，供讨论。有不当之处望提出宝贵意见。

近年来，国家医药管理局新药研究管理中心在受理评审新药基金项目的上报材料过程中，发现有些药效学试验设计不够规范，影响了研究与开发的周期。为提高工作效率和研究水平，特与中国心血管药理学会合作，开办了此次心血管药药效学研讨班。

本工作得到各方面的大力支持，特此表示衷心的感谢。

曾贵云

目 录

降压药药效学技术要求	(1)
抗心肌缺血药药效学技术要求	(5)
治疗心功能不全药药效学技术要求	(8)
抗心律失常药药效学技术要求	(12)
调血脂药与抗动脉粥样硬化药药效学技术要求	(16)
我国心血管新药临床评价方法学要求	(21)

降压药药效学技术要求

一、动物选择

常用狗、猫或大鼠，不宜用兔。使用大鼠要说明其种系。

二、试验模型及方法

(一) 高血压动物实验治疗试验

所试药物准备推荐到临床应用时，必须进行实验治疗试验。所用动物模型有自发性高血压大鼠(SHR)、SHRsp(脑卒中易感型)、肾血管狭窄型和DOCA盐型高血压大鼠、肾血管型高血压狗等。先测对照期(一周以上)的血压及心率，当血压稳定后给药(口服或注射)，必要时测定给药前后的ECG和呼吸。第一次给药时最好测定给药前和给药后不同时间的血压，以确定以后每日(或隔日)测压时间及次数(1-2次)。给药期为1-3周，测定其血压及心率。如测定ECG则观察QRS波、T波、ST段及心律。停药后观察到血压恢复到给药前水平为止。

每组动物大鼠6-10只或狗4-6只。申请基金或申报一类新药要用两种以上动物模型。给药后血压下降20 mmHg以上或下降到正常血压水平为有效。

(二) 清醒高血压动物急性降压试验

常用高血压大鼠，包括SHR，肾动脉狭窄型高血压大鼠或DOCA盐型高血压大鼠。测压的方法可用尾动脉间接测压或直接插管测压，前一种方法只能用于药物降压维持时间较长者。后者可连续测定给药前后的血压，观察药物时效过程；但此法须先进行动脉插管手术，此法不宜用于长期给药；如静脉注射给药，应同时作静脉插管(颈外静脉或股静脉)。

若有条件可用肾型高血压狗，采用颈动脉皮鞘测压法，方法简便易行，可从肘静脉注射药物。测定给药前和给药后不同时间的血压及ECG。

插管直接测压法可连续观察给药前后平均动脉压(MAP)。间隔不同时间将纸速加快(25-50mm/s)观察血压波型

(SP, DP), 求出急性降低血压30-50mmHg的剂量。这样可以和已知药进行疗效的定量比较。若有加快心率作用, 求出加快10-20次/min的剂量并与相应已知药比较。

试验组数及动物数均同“高血压动物实验治疗试验”。

(三) 血流动力学试验

血流动力学试验一般用狗, 因同时可测的指标较多。在戊巴比妥钠麻醉下, 分离颈总动脉、颈外动脉、股动脉和股静脉。左侧开胸分离冠状动脉左旋支、主动脉上升支。结扎颈外动脉和椎动脉后在颈总动脉、冠状动脉、股动脉和升主动脉上放置电磁流量计探头即可分别测定这些血管的血流量, 以主动脉流量代表心输出量。股动脉插管插到腹主动脉, 测定中心动脉压。四肢皮下插针型电极, 测 ECG。从心尖将导管插入左心室测左心室收缩压(LVSP)和舒张末期压(LVEDP), 经微分标出左室压力上升和下降速率(LVdp/dtmax)。

麻醉大鼠从右或左颈动脉插管至左心室, 也可同时测血压、ECG、LVSP和LVdp/dtmax。但申请新药基金或上报一类药应该用狗。

试验结果评价: 泵血功能主要以心输出量(CO)和心脏指数(CI)代表; 收缩功能主要以LVdp/dtmax代表; 前负荷以LVEDP代表; 后负荷以血压(BP)和总外周阻力(TPE)代表; 器官血流: 脑血流主要以颈内动脉血流代表; 心脏血流以冠状动脉左旋支血流代表; 外周血流以股动脉血流代表。必要时须测肾血流。

三、降压药药效学试验要求

试验项目	第一类	第二类	第三类	第四类	第五类
1. 高血压动物实验治疗试验	+	+	+	+	+
2. 清醒高血压动物急性降压试验	+	-	+	-	-
3. 血流动力学试验	+	±	-	±	+

四、药物

(一) 剂型和给药方法:

1、对原料药要进行药效学试验, 给药方法应采用拟推荐临床应用的给药方法。制剂若为注射剂, 则须进行急性降压试验, 与原料药进行对比。

2、溶于水的药物, 配制成生理盐水溶液。

3、须加助溶剂才能溶解的药物, 应以溶剂作对照, 若溶剂有轻度降压效应, 在评定所试药物降压疗效时, 应减去溶剂引起血压下降的数值。给狗注射给药时不能用吐温80助溶, 因它可引起组胺释放而致血压急剧下降, 大鼠的这种反应较轻。也不能用DMSO助溶。

4、加助溶剂还不能溶解的药物, 可配成悬液或油剂, 但不可静脉或腹腔注射给药。悬液只能口服, 油剂可皮下或肌注。清醒动物可灌胃, 麻醉动物可先用细塑料管插入十二指肠或胃, 然后关闭腹腔, 待血压稳定后再经塑料管将药物注入十二指肠或胃。

(二) 剂量

所试药物要选择2个或2个以上剂量, 申报基金要3个剂量以上以便和已知药进行定量比较。选择2个以上剂量时应以等比级数增加, 差距应适当。

(三) 对照

除需溶剂对照外, 还需与已知作用机理相似的公认疗效最佳的药进行对照选择主要药效学为指标, 比较降压强度、作用持续时间和副反应(如心率、心律等), 对照选用1-3个剂量。在申请新药基金要考虑抗高血压药临床应用的现状, 过去常用的解交感药现在已经较少应用, 作为新药研究的前景值得考虑。

六、注意事项

(一) 实验治疗试验一类新药须用2种高血压动物模型。二-五类用一种

模型,最常用的是自发性高血压大鼠(SHR),其次是肾血管型高血压大鼠或狗。

(二)若所试验药物的降压作用维持时间不长,又无急性耐药作用,则在急性试验中可在同一动物制身上观察几个剂量(包括对照药),但必须在血压恢复到给药前水平10min后才能给下一个剂量。可采用交叉给药法,排除时间、室温和药物相互作用的影响,更准确地比较已知药和所试药的药效学以及量效间的差异。

(三)测定血压要注明室温,用尾动脉间接测压法测定大鼠血压时常需加温,要注明加温的温度和时间,因温度对血压有较大影响。急性实验时,动物肛温应保持 $37-38^{\circ}\text{C}$,可用灯照加温。

(四)要注意麻醉深浅,清醒动物要注意动物是否安静,是否有环境因素的干扰。不论急性还是慢性实验,都要避免对动物采取粗暴手段,因为动物会因此而释放儿茶酚胺等影响实验结果。

抗心肌缺血药药效学技术要求

一、动物选择：

根据实验要求，选用狗，猫，家兔，大鼠，小鼠，大小鼠需说明种系。狗每组6—8只，小动物每组10只。

二、试验模型和方法：

(一)心肌缺血或梗塞模型。

1. 整体实验：

- (1)冠状动脉结扎法：(大鼠，狗)形成心肌梗塞)
- (2)冠状动脉气囊法(狗)，间断阻断冠脉血流，引起心肌缺血。
- (3)冠状动脉灌注法(狗)，减少冠脉血流引起心肌缺血。
- (4)药物(麦角新碱、垂体后叶素；异丙肾上腺素)(大，小鼠)引起心肌缺血或坏死。

2. 离体实验

- (1)心脏灌注，结扎冠状动脉
- (2)心脏灌注，低氧或无氧灌注
- (3)心脏，心肌片，培养心肌细胞的“缺血样损伤”

(二)冠脉循环及血流动力学

用麻醉犬进行实验，插冠状窦马管和动脉导管供取血测 O_2 和乳酸及其他生化指标用。

三、观察指标

在抗心肌缺血药研究中，需要有1.形态学指标：(定量组织学如缺血及梗塞心肌的双重染色，N-BT或TTC染色，以及显微镜或电子显微镜下的定量或半定量组织学观测等)2.生理指标：(体表标测心电图、心外膜心电图、心功能及血流动力学，包括心率、心电图、动脉压、冠脉流量、心输出量、左室做功、左

室内压、左室舒张末期压、左室内压最大变化速率、心搏出量、心脏指数、心搏指数、总外周阻力、冠脉阻力等，并可同时测定心肌耗氧量、氧利用率或耗氧指数等。3. 生化指标(如CPK、FFA、ATP和乳酸O₂)，生化指标包括动脉血和冠状窦静脉血)。

四、抗心肌缺血药主药效学实验要求

实验项目	新药类别				
	1	2	3	4	5
抗心肌缺血实验					
冠脉结扎实验	+	+	+	±	+
其它整体实验	+	±	+	+	+
离体实验	+	±	+	±	-
冠脉循环及血流动力学实验					
学实验	+	±	+	±	+

五、药物

(1) 制剂：一般情况下应以原料药进行药效学研究，但在某些情况下也可进行制剂药效学研究，如消化道给药、栓剂、气雾剂、贴剂、肠溶剂、缓释剂等。

(2) 剂量：应选择合理剂量，大动物至少设两个剂量组，小动物及体外实验至少设三个剂量，以观察量效关系。

(3) 给药途径：应以临床用药相同的给药途径为基础，并加选一种给药途径(凡水溶性好，可供注射者，静脉给药应作为首选途径)。

5、对照：主要药效学实验至少设两组对照。

(1) 空白对照：一般可用蒸馏水或生理盐水，特殊情况则要求溶剂对照，其PH值、无机离子、溶媒及助溶剂等，应与检品一致。

(2) 已知有效药对照：西药应选择作用性质相似，公认有效的正式药品，如硝酸甘油、硝苯吡啶或心得安 (prop ran o l o l)。

六、注意事项

(1) 目前抗心肌缺血的药物主要有硝酸酯类、 β 受体阻滞剂和钙拮抗剂，为了确定一个新药在临床应用时确有疗效，需要进行的药效学实验较多，一般应以整体动物实验为基础，根据药物特点及实验要求，适当选用器官、组织、细胞及分子水平的实验。多层次实验相结合，有利于重复验证药效，说明作用原理。

(2) 麻醉对药效学有一定影响，在进行实验时应包括清醒动物实验。

(3) 药物在减慢心率时（特别在麻醉状态下），往往出现减轻缺血性心电图改变现象，造成假阳性，应予注意

治疗心功能不全药药效学技术要求

一、动物选择

常用狗、猫、豚鼠、也可用家兔，一般不宜用大鼠，因它对强心甙和磷酸二酯酶抑制剂的强心反应不敏感。

二、试验模型及方法

(一) 用戊巴比妥钠引起的急性心力衰竭。

1、在体猫衰心实验。体重2-4kg，每组6-8只，戊巴比妥钠麻醉，开胸，左心室插管，以 $Lvdp/dt \max$ 作为心收缩力指标，静脉恒速滴注3%戊巴比妥钠后， $Lvdp/dt \max$ 逐渐下降，当下降到200-300mmHg/s，5分钟无上升倾向，视为形成急性心衰，然后静脉恒速滴注所试药物，所试药物的浓度应当适当(0.2ml/min)，死亡时间以30min左右(强心甙)为宜，计算(1)治疗量($Lvdp/dt \max$ 上升至峰效应或滴注戊巴比妥钠前1/2时的累积量)、(2)中毒量(强心甙以出现心律失常为指标，磷酸二酯酶抑制剂以 $Lvdp/dt \max$ 下降峰值的10%为指标，儿茶酚胺类可用上述两种指标)、(3)致死量(心电图形消失10s时的累积量)、(4)治疗宽度(中毒量/治疗量)，治疗指数(致死量/治疗量)，也可用给戊巴比妥维持量形成稳定心衰，静注不同剂量所试药物。

2、在体豚鼠心衰实验，体重300-400g，每组6-8只，戊巴比妥钠麻醉后，恒速静注1.5%戊巴比妥钠， $Lvdp/dt \max$ 下降到100-150mmHg/s并维持5min以上后，恒速滴注所试药物。观察指标同上。

3、狗心衰实验，每组5-8只，iv戊巴比妥钠(30mg/kg)麻醉，2-3min内缓慢注射3%戊巴比妥钠20-30ml，使MAP下降到50-60mmHg， $Lvdp/dt \max$ 下降到基础水平的25-30%，然后滴注戊巴比妥钠4-6mg/min，以维持稳定心衰状态(可维持几小时)，iv或胃肠道给予所试药物。

(二) 心得安引起的心力衰竭

麻醉豚鼠、250-350g, 每组6-8只, 手术操作过程同上, iv心得安5mg/kg 分钟注毕, 然后, 恒速静注0.2mg(0.1-0.2ml)/min, 可维持稳定的心衰状态。恒速静注所试药物, 可求出治疗量、中毒量和致死量, 此外, 恒速静注异搏定也可形成心力衰竭。

注: 心肌收缩力还可用应变弓方法(狗和猫), 将应变弓插入左心室壁收缩力最强部位, 记录深层肌纤维的节段收缩(以g表示)。在反应强心药对心肌收缩力影响方面, $Lvdp/dt \max$ 与应变弓所记录出的收缩力改变是一致的, 但后者更为敏感, 且不受前后负荷和心率的影响。

(三) 血液动力学试验

可用正常狗和猫(见降压药), 也可以在进心衰实验时, 同时观察心输出量和器官血流量, 心输出量是作为心脏泵功能指标, 用电磁流量计连续记录主动脉血流的方法或热烯释法, 前者能连续记录, 但不够精确, 后者较精确, 且与临床所用方法一致, 尽可能用后一种方法。

(四) 离体乳头肌实验

用豚鼠或猫右心室乳头肌, 直径不超过2mm。

给药: 按克分子浓度, 以 $1/2 \log_{10}$ 等比递增, 至少用4-5个浓度, 作累积量效曲线, 每次加药后须待收缩振幅恒定后再加第二个浓度, 直至收缩振幅不再增加甚至反而减小或出现自动节律为止。以用药前收缩振幅作对照, 求用药后的张力增加 $\%(\Delta Fc)$

求各浓度点的 ΔFc 的平均值及标准差。然后以 ΔFc 为纵座标、浓度对数为横座标绘制累积量效曲线, 从曲线中读出。

$\Delta Fc=50\%$ 时的浓度(效价)

F_{cmax} 即 ΔFc 为最大时的增加 $\%$ 数(效能)

并与相应的对照药比较。

三、强心药药效学试验要求

(一) 第一类新药需进行狗及猫戊巴比妥钠心衰实验, 心得安或异搏定豚鼠心衰实验以及离体乳头肌实验。各类新药需进行的试验见表。

试验项目	第一类	第二类	第三类	第四类	第五类
狗或猫在体心衰试验	+	±	-	-	+
豚鼠在体心衰试验					
(1) 戊巴比妥钠引起	+	+	+	+	-
(2) 心得安或异搏定引起	+	-	-	-	-
血液动力学试验	+	±	+	±	+
离体乳头肌试验	+	+	+	+	+

四、药物

(一) 剂型和给药方法

(1) 溶于水的药物, 可用该药之水溶液或生理盐水溶液经任何途径给药, 离体实验所用药物溶于相应的缓冲生理溶液中, 或少量生理盐水溶液中, 给药总量不超过浴槽中生理溶液量的十分之一。密切注意当加入最大容量试药后, 浴槽内溶液的pH有无变化或沉淀发生。(2) 选择1-2个指标比较原料药和制剂的作用。

(二) 剂量、所试药物和对照药均要选2个或2个以上剂量, 以等比级数增加, 差距应适当。

(三) 对照

除溶媒对照外, 还需与已知药对照, 强心甙的对照剂为地高辛或哇巴因, 儿茶酚胺类的对照药以多巴酚丁胺类为宜, 磷酸二酯酶抑制剂的对照药为甲晴吡啶 (Milrinone), 当有新的更有效的药物出现。可改变对照剂。

五、注意事项，形成急性心力衰竭时，以心收缩力逐渐下降为宜，若下降太快，易出现死亡，心衰程度若不够严重，则不用戊巴比妥后心收缩力可自行恢复，若太严重又易死亡，故应适当掌握用量，也可用适量滴注以维持稳定心衰，不同动物的反应不同，上述药量是一般用药量，实验者可根据自己经验进行调整。

抗心律失常药药效学技术要求

一、动物选择

常用狗、猫、大鼠、家兔和豚鼠、动物应健康、性别不限，大鼠要注明种系，狗、猫每组6-8只，家兔每组8-10只，大鼠每组10只以上，体重200~250g。

二、试验模型及方法

(一) 电刺激猫或家兔心脏诱发的心律失常

观察指标：测定室颤阈。

(二) 结扎冠脉前降支形成的心律失常

1、大鼠冠脉结扎试验

2、狗冠脉两期结扎。

(三) 药物诱发的心律失常

1、乌头碱诱发心律失常

(1) 静注乌头碱诱发大鼠心律失常

(2) 麻醉开胸狗局部(窦房结，心房或心室)应用乌头碱，可形成不同的心律失常。

2、强心甙诱发的心律失常

3、氯化钡诱发的心律失常

4、肾上腺素诱发清醒家兔心律失常

5、乙酰胆碱诱发麻醉狗心律失常

观察指标：记录II导ECG, 观察

(1) 心律失常(室早VP, 室速VT)出现的时间心律失常程度(VP+VT数), 药物作用维持时间, 恢复窦性心律动物数/动物总数。

(2) 房颤或室颤发生率和死亡率。

(四)电生理试验

1、离体豚鼠心室乳头肌细胞动作电位

观察指标：有效不应期（ERP）、动作电位持续时间（APD），平均动作电位（MAP）、动作电位上升速率（Vmax）和ERP/APD的比值。

2、离体家兔窦房结起搏细胞动作电位

将制备好的家兔窦房结标本固定，恒速灌流1—2h后，对窦房结进行微电极探查，记录起搏细胞给药前后及冲洗后的动作电位，比较组间动作电位幅度（APA）、APD、Vmax，最大舒张电位（MRP），4相自动复极速率（SDVP4），自发兴奋频率（SEF）。

三、抗心律失常药药效学试验要求

试验项目	新 药 类 别				
	一	二	三	四	五
室颤阈试验	+	±	+	-	+
冠脉结扎试验					
狗	+	-	-	-	-
大鼠	-	+	+	+	+
药物所致心律失常					
乌头碱	+	+	+	+	+
哇巴因					
*氯化钡或氯化钙					
**肾上腺素					
电生理试验					
心室乳头肌	+	±	+	±	+
窦房结起搏细胞	+	±	+	±	+

* 第Ⅳ类抗心律失常药选用此模型,其它类药物不一定选用。

** 第Ⅱ类抗心律失常药选用此模型,其它类药物不一定选用。

四、药物

(一) 剂型和给药方法

1、对原料药要进行药效学试验,给药方法应采用拟推荐临床应用的给药方法。制剂为注射液,需iv给药,并与原料药进行对比。

2、溶于水的药物,进行整体试验时,配成生理盐水溶液,离体试验时溶于相应营养液中。

3、加助溶剂才能溶解的药物,需作溶媒对照,加助溶剂还不溶解的药物,则采用十二指肠给药或灌胃的给药途径。

(二) 剂量

所试药物选择2个或2个以上的剂量。以了解药物的量效关系。

(三) 对照、除溶媒对照外,还需与已知公认临床疗效较好的类似药进行对照。如Ⅰa类用奎尼丁,Ⅰb类用利多卡因,Ⅰc类用心律平,Ⅱ类用心得安,Ⅲ类用乙胺碘呋酮,Ⅳ类用异搏定。

五、注意事项

(1) 由于抗心律失常药分为4类,各类药物作用机理不同,因此当知道所试药物属于何类时,应选择相应的敏感模型,如属于 β 阻滞药(Ⅱ类)则对肾上腺素所致心律失常更敏感,若属于Ⅰ类(钠通道阻滞剂)则乌头碱所致心律失常更敏感,钙拮抗剂(Ⅳ类),则由氯化钡或由氯化钙所致心律失常及结扎冠脉所致心律失常敏感。但现在临床有效抗心律失常药均能在结扎冠脉、乌头碱及哇巴因所致心律失常模型中反应出来,因此这三种模型最常应用。

(2) 在上述病理模型中,以结扎狗冠脉和大鼠iv乌头碱所形成的心律失常较稳定和持久,可供实验治疗用,其他模型多用作预防给药。