

植物提取素安全性和对犬皮肤病的临床疗效研究报告

刘甫贵 李贵轲 刘甫会

云南泊尔恒国际生物制药有限公司

【摘要】本文主要致力于中药复合提取素的安全性和临床疗效研究,通过运用中药复合提取素对大鼠的经皮急性毒性试验(两者均设立对照组和不同浓度的实验组)、过敏性实验来研究该药物的非临床安全性。以酮康唑和盐酸特比萘芬为对照,通过观察记录实验动物和临床动物同时用药的皮肤恢复情况来研究该药物的临床治疗效果。将用于经皮急性毒性实验的大鼠全部处死,取相应组织制作病理切片进行病理组织学观察;定期对用于靶动物安全性试验的犬只采血,分析血常规,CRP 和各项生化指标,对用于观察疗效的实验犬和临床犬定期拍照。观察所有实验动物的精神状态,饮食情况,每天定期测量体温,用药处皮肤的变化情况等。以下是就是关于实验的详细解说:

1 中药复合提取物对 安全性试验 (靶动物安全性试验)

1.1 动物分组与用药

试验前观察其健康状况(体温、脉搏、血压、呼吸、为、精神、排粪、排尿及饮 消耗量等是否有异常变化等)。并测量体温、 跳和呼吸数(正常范围:体温 37.5~39℃; 跳 70~120 次/分;呼吸 10~30 次/分),以确定 的基础 理指标,12 只动物随机分为 4 个试验浓度组,即中浓度组、 浓度组及空白对照组,每组 4 只,表皮涂擦受试物,用药 1 次。

1.2 临床观察

试验期间观察动物是否有与药物不耐受的症状出现,如 行异常情况。若实验中涉及到未成年 ,则应记录试验前及试验结束后动物体重的变化,计算体重增率。如有死亡,则须解剖尸体检查,记录病变情况;若有肉眼可见的病变时,则须进行病理检查。

1.3 试验结果

1.3.1 血常规结果

血常规结果显示:中浓度组、高浓度组的 WBC 与对照组变化规律相同,均为在第一天和第四天采血的白细胞值高于第七天的值,差异显著性检验显示,均为差异不显著($P>0.05$)。各组 RBC 的值与第一天均有所变化,但都在正常范围内小范围波动差异显著性检验显示,均为差异不显著($P>0.05$)。

中浓度组、高浓度组的 MCV 与对照组变化规律相同,均为在第一天和第四天采血的白细胞值低于第七天的值,但差异显著性检验显示,均为差异不显著($P>0.05$)。中浓度组组大 MCHC 值第一天偏低但第四天和第七天均略有升高的趋势,高浓度组则略降低,作差异显著性检验,结果仍为差异不显著($P>0.05$)。

综上所述,血常规主要指标根据统计学表现均为差异不显著,可以看出中药复合提取物中剂量、高剂量范围在血常规检测指标中均未表现出病理变化,可作为该药对机体无损伤的参考。

1.3.2 血液生化分析

血液生化分析检测结果显示,中药复合提取物的中浓度、高浓度用药前后的 TP、ALT、ALP、ALB、UREA、CREA、GLU、AST 等各个指标的变化与对照组几乎同步,都在正常范围内波动,与对照组相比,差异不显著($P>0.05$)。

综上所述,生化指标根据统计学表现均为差异不显著,可以看出中药复合提取物中剂量、高剂量范围在生化检测指标中均未表现出病理变化,可作为该药对机体无损伤的参考。

2 过敏性实验

2.1 动物分组与用药

取体重为 200~300g 健康白色豚鼠 18 只,雌雄各半,随机分为甲、乙、丙 3 组,按上述方法于试验前

2h 脱去豚鼠脊柱两侧之毛, 每侧面积约 3cmx3cm, 用临床用中药复合提取物、赋形剂各 0.2g 和 10% 2,4 二硝基氮代苯 0.2 ml 分别涂于 3 组豚鼠右侧脱毛区, 并用油纸纱布固定, 持续每日平均饮水量、进食量及涂药 1 周后平均 6h 后用温水洗去受试物, 于第 7 天和第 14 天以同样方法重复涂各受试物以致敏。末次给药致敏后 14 天再将归中药复合提取物、赋形剂各 0.2g 和 0.1g 2,4 二硝基氮代苯 0.2ml 分别涂于 3 组豚鼠背部左侧脱毛区, 以激发接触, 8h 后用温水洗去受试物, 观察用药局部皮肤变化。

2.2 实验结果

给 2,4 二硝基氮代苯的丙组豚鼠于激发接触后左侧脱毛区皮肤在 24h 出现散在红色丘疹, 48h 见大片红肿, 并有少量渗出, 72h 红肿加剧且稍有溃烂, 1 周后红斑逐渐消退, 且部分豚鼠用药局部由溃烂形成黑色结痂逐渐脱落, 而用药及赋形剂的甲、乙组豚鼠在激发接触后的几天里左侧脱毛区皮肤 24h 有轻微过敏红斑现象, 72h 红斑逐渐消退, 无水肿等过敏现象。

3 中药复合提取素对 真菌性皮肤病临床疗效观察

3.1 试验分组与处理

实验动物分高、中剂量复合中药提取物与盐酸特比萘芬和酮康唑对 试验四个组。

80 只病犬, 设高、中 2 个浓度组(中浓度组为临床推荐剂量), 酮康唑对照组(推荐剂量)及盐酸特比萘芬对照组(推荐剂量), 每组 20 只。采用随机分组, 各组药物直接涂于患处, 正常饲喂。具体见表 3-1。

表 3-1 不同剂量中药复合提取物分组与处理

组别	数量	处理
中药复合提取物高剂量组	20	涂药患处, 1 次. d-1, 连续用药 2 周
中药复合提取物中剂量组	20	涂药患处, 1 次. d-1, 连续用药 2 周
酮康唑剂量组(对照)	20	涂药患处, 2 次. d-1, 连续用药 2 周
盐酸特比萘芬(对照)	20	涂药患处, 2 次. d-1, 连续用药 2 周

3.2 临床观察指标

临床上皮肤真菌病的临床症状包括丘疹、水疱、红斑、鳞屑、角化、浸渍、瘙痒等, 分别用记分法评价, 即 0=无, 1=轻, 2=中, 3=重。在治疗前和 2 周末分别进行评分。

3.3 临床疗效判断标准

临床疗效一般分为痊愈、显效、好转、无效级。根据皮肤症状和真菌镜检结果进行评价。在周末时判断其疗效。

皮肤真菌病按照症状和体征积分下降指数来判断具体计算方法如下:

症状体征积分下降指数 = (治疗前总积分 - 治疗后总积分) / 治疗前总积分 × 100%

痊愈: 皮损完全消退或仅遗留色素斑, 痒感消失, 真菌镜检阴性;

显效: 皮损消退 60%, 痒感明显减轻, 真菌镜检阴性;

好转: 皮损消退 20% 到 60% 痒感较轻, 真菌镜检阳性;

无效: 皮损消退 < 20% 或继续加重, 痒感同前或加剧, 真菌镜检阳性。

作疗效评价时, 将痊愈病例与显效病例合计为有效病例, 计算出有效率。

有效率 % = (痊愈病例数 + 显效病例数) / 治疗总数病例数 × 100%

3.4 真菌学疗效判断标准

采用消除、未消除二级标准评定。消除即连续二次真菌镜检阴性, 未消除即真菌镜检阳性。

3.5 不良反应评价

将患病 在用药期间出现的所有不良反应做记录, 包括体温、 欲、饮欲、

精神状态, 其中的任何 项出现为异常者, 判定为不良反应。

3.6 实验结果

中药复合提取物与酮康唑和盐酸特比萘芬对犬皮肤真菌病的比较疗效显示, 各病例在治疗期间和治疗结束 2 周观察期内, 实验动物开始出现了瘙痒、红肿的临床过敏症状的不良反应, 后来反应消退。

3.6.1 中药复合提取物与酮康唑和盐酸特比萘芬临床比较试验

表 3-2 中药复合提取物与酮康唑和盐酸特比萘芬临床比较

组别	例数	治疗前 分数体积	治疗后 分数体积	症状体 征积分 下降指数	治愈	显效	好转	无效	总有效率(%)
中药复合 提取物高 剂量组	20	52	5	90.38%	17(85%)	1(5%)	2(5%)	0	19(90%)
中药复合 提取物中 剂量组	20	49	7	85.71%	15(75%)	2(10%)	3(15%)	0	17(85%)
酮康唑剂量组	20	48	9	81.25%	14(70%)	2(10%)	2(10%)	1(5%)	16(80%)
盐酸特比萘 芬剂量组	20	51	7	86.27%	16(80%)	1(10%)	4(10%)	0	17(85%)

注:药物试验组、药物对照组的痊愈率%分别与阳性对照组比较,有统计学显著性差异(<0.05)。

不同剂量中药复合提取物与酮康唑和盐酸特比萘芬溶液对真菌皮肤病的治疗后,总有效率均高于85%,其中中药复合提取物高剂量组在观察期内,总有效率为90%,治愈率高达85%,临床症状体征下降分数为90.38%;中药复合提取物高剂量组在观察期内,总有效率达85%,治愈率为75%,临床症状体征下降分数为85.71%。酮康唑剂量组在观察期内,总有效率为80%,治愈率为70%,临床症状体征下降分数为81.25%;而盐酸特比萘芬剂量组在观察期内,总有效率达85%,治愈率为80%,临床症状体征下降分数为86.27%。

中药复合提取物高剂量组总有效率、治愈率高于酮康唑剂量组和盐酸特比萘芬剂量组;而中药复合提取物中剂量组总有效率和盐酸特比萘芬组相同且高于酮康唑剂量组,治愈率中药复合提取物中剂量组低于盐酸特比萘芬剂量组但高于酮康唑剂量组。结果表明,中药复合提取物高剂量组和中药复合提取物中剂量组效果等于且大于盐酸特比萘芬,中药复合提取物高剂量组和中药复合提取物中剂量组大于酮康唑。

4 结论

经过中药复合提取物对于家兔皮肤刺激性试

验,已初步了解其对家兔皮肤涂擦后不会引起充血、组织变性、坏死等刺激反应。单次给药皮肤组及多次给药皮肤组涂擦受试物中药复合提取物后,局部皮肤未出现肿、充血、坏死、变性等刺激反应,表明中药复合提取物对皮肤无刺激性作用。

经过大鼠经皮急性毒性和靶动物安全性试验,对大鼠做了长期毒性试验后,肉眼观察大鼠各组织器官无瘀血、肿、充血等病理变化,各组织病理切片未出现坏死、变性等损伤,试验对靶动物的液进各项指标分析,其血常规、化和CRP各项指标分析结果均为差异不显著,表明中药复合提取物对靶动物内脏器官无损伤作用。

经过用药及赋形剂的甲、乙组豚鼠在激发接触后的几天里左侧脱毛区皮肤24h有轻微过敏红斑现象,72h红斑逐渐消退,无水肿等过敏现象,说明该药物过敏性小,在安全范围。

经过与酮康唑和盐酸特比萘芬的临床疗效比较,表明中药复合提取物高剂量组和中药复合提取物中剂量组效果等于且大于盐酸特比萘芬,中药复合提取物高剂量组和中药复合提取物中剂量组大于酮康唑,且毒副性小,有继续研究和开发的意义。

【参考文献】

[1]严春艳等. 植物生物转化技术与中药活性化合物研究[J]. 2005年10期: 4-8.