

ZCM 点滴溶液の急性毒性の研究

実験は、両性の白色異系交配ラットで行った。試験溶液の急性毒性を決定するために、リッチフィールド・ウィルキンソン (Litchfield-Wilkinson) によって急速に注射可能な量で両性のラットに臨床的使用における意図された使用方法に従って静脈内投与が行われた。比較対象は、20ml/kg の容量で 0.9% 塩化ナトリウム溶液の点滴を受けた (ICH M3 (R2) 2009 年 6 月 11 日付のヒト臨床試験および医薬品のマーケティング承認のための非臨床安全性試験のガイダンス、最新のステップ 4 バージョン)。

zcm の注入溶液の急性毒性の研究では、有効成分量で 1000mg/kg の最高用量での投与で、導入動物群における死亡は観察されないことが明らかとなった。

実験 1：パラセタモ誘導肝障害モデル

Sprague Dawley ラットを 4 群に分けた

- | | |
|---------------|-----------------------------|
| グループ 1 対照 | n 10 生理食塩水 (0.9%NaCl) |
| グループ 2 影響を受ける | n 10 生理食塩水+パラセタモール |
| グループ 3 処置 A | n 10 ZCM 10ml / kg +パラセタモール |
| グループ 4 処置 B | n 10 ZCM 20ml / kg +パラセタモール |

ラットにパラセタモール 500mg / kg を経口投与し、2 時間後に 10ml / kg (グループ 3) および 20mg / kg (グループ 4) の ZCM を 10 日間経口投与した。

11 日目に、ラットを解剖して、以下について試験した：血液生化学：AST および ALT、肝臓重量、組織病理学 (巨視的、顕微鏡的)

ZCM の肝臓保護効果

パラメタモールで被毒したラットの肝重量に対する zcm 溶液の影響

- 第 2 グループでは対照群との比較での肝臓重量は対照群 (グループ 1) と比較して著しく減少した。
- グループ 3 の対照群との比較での肝重量減少は、グループ 2 と比較して著しく減少した。
- グループ 4 の肝重量減少は、グループ 2 および 3 より著しく低かった
- グループ 3 およびグループ 4 の肝臓重量減少は、グループ 1 よりも高かったが、その差は統計学的に有意ではなかった。

AST および ALT レベルに対する zcm 溶液の効果

- グループ 2 における ALT および AST の活性は、対照グループ 1 と比較して著しく増加した。
- zcm 溶液 (グループ 3 および 4) で処置したグループの ALT および AST のレベルは、グループ 2 と比較して有意に低下し、グループ 1 より高かったが、その差は統計学的に有意ではなかった。

肝組織病理学における zcm 溶液の効果

- 組織病理学：ラット肝臓の巨視的および顕微鏡的検査の結果、zcm 溶液を含まないグループ 2 の試験ラットは、壊死および炎症の徴候を有する対照群よりも重度の損傷構造の肝臓を有することが示された。両方の用量の ZCM 溶液：10ml /kg および 20ml/kg は肝臓に対して強力な保護効果を有し、肝臓には軽度の炎症が見られるのみで構造的損傷はほとんど観察されなかった。

ZCM溶液の免疫防御特性

研究対象：スイスのマウス、純血種、両性、体重 26 ± 2 グラム

実験は、免疫不全誘発シクロホスファミド (CPM) のモデルで行った。

CPMを腹腔内に注射し、200mg/kg 体重の単回用量で免疫抑制状態を誘発する。

試験したマウスを3つの群に分けた：

グループ 1 (n = 10)：介入しないマウス

グループ 2 (n = 10)：CPM を有し、生理食塩水 (NaCl 0.9%) で処理したマウス

グループ 3 (n = 10)：CPM を有するマウスで、40ml / 1kg の ZCM 溶液で2回に分けて経口投与した。

11日目に、マウスを解剖し、血液およびリンパ管器官を採集・検査した。

すべてのグループのマウスを、以下のパラメータによって評価した：

- 白血球、好中球、リンパ球、単球、NK細胞の数

・ELISAにより、血清中のIgG、サイトカインIL2及びTNF- α を評価する。

結果：

表 1：白血球数に対する Zcm 溶液の効果

グループ	白血球の数
グループ 1：	3.12 ± 0.34
グループ 2：	1.06 ± 0.27
グループ 3：	2.41 ± 0.37

結果は、Zcm 溶液が、CPM によって誘導された末梢血中の白血球の減少を有意に回復させたことを示した。

表 2：血清中の IgG 濃度に対する zcm 溶液の効果

グループ	IgG 濃度 (mg / ml)
グループ 1：	78.45 ± 0.51
グループ 2：	47.25 ± 0.76
グループ 3：	69.87 ± 1.13

結果は、zcm 溶液が、CPM 誘発免疫抑制マウスの体液性免疫を有意に回復させることを示した。

表 3：IL-2 濃度 (pg / ml) に対する zcm 溶液の効果

グループ	IL - 2 濃度
グループ 1：	7.79±0.56
グループ 2：	2.57±0.28
グループ 3：	7.21±0.59

結果は、zcm 溶液が、CPM 誘発免疫抑制マウスの IL-2 レベルを回復させるのに有効であることを示した。

表 4：TNF- α 濃度に対する zcm 溶液の効果 (pg / ml)

グループ	TNF- α 濃度
グループ 1：	4.97±0.52
グループ 2：	15.75±2.78
グループ 3：	7.33±1.26

結果は、TNF- α 形成を抑制することによって CPM によって誘発される炎症反応を低減する zcm 溶液の強力な有効性を示した。

実験 2

サルモネラ・エンテリカのリポ多糖による急性内毒素血症モデルにおける zcm 溶液の死亡率への影響

この試験は、18～20 週齢および体重 180～300g の 20 匹の標準 Wistar ラットで行った。すべての動物に標準的な食物および水を与えた。

サルモネラ・エンテリカ血清型腸炎 (SIGMA-ALDRICH) の細菌エンドトキシン - リポ多糖の導入によってモデル化された致死性エンドトキシンを注射用水 0.2ml 中に 1 回静脈内 (尾静脈) に注射した。毒性ショックにより動物に発熱性反応が引き起こされる量と死亡率 50% の実験的に一致した用量は、それぞれ 5 μ g/kg および 25 μ g/kg のエンドトキシンであった。発熱性反応は直腸温度を測定することで記録された (Filkins JP, Di Luzio NR, Endotoxin induced hypothermia and tolerance in the rat. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1968 Dec, 129 (3): 724-6; Utili R, Abernathy CO, Zimmerman HJ. Endotoxin effects on the liver. Life Sci. 1977 Feb 15, 20 (4): 553-68; M. Banet, Fever and survival in the rat. The effect of enhancing fever, Pflugers Arch. 1979 Jul,

381 (1): 35-8.)。

この研究では八つの実験動物群を使用した（それぞれ 20 匹のラット：2つの対照群 - 処置無し、実験群に塩化ナトリウムの 0.9%溶液を 20ml / kg の用量で注射、実験群 2 に 20ml / kg の用量で新しい注入溶液を注射した）。研究薬物をリポ多糖の注射後 2 時間後に 1 回静脈内投与した。薬物の有効性の評価はリポ多糖の投与後 7 日間の間各群の死亡率によって評価した (PL.2)。

5mg および 25mg / kg の用量で LPS を投与した後の最初の 7 日間の対照群の動物では、毒性ショック熱、運動活動低下、筋緊張低下、食物拒絶、下痢、および死亡がみられた。

5mg / kg の用量でのエンドトキシンを継続すると、60%の死亡率となった。

標準的な治療法を実施した塩化ナトリウムの 0.9%溶液群では、毒性ショックが生じ、動物の死亡率は 60%から 50%に低下した。zcm 溶液を使用することにより、対照と比較して実験の 7 日以内での死亡率が 60%から 10%に低下した)。

実験動物に投与したエンドトキシンの単回投与量を 25 μ g/kg に増加させた場合、7 日以内に毒性ショックの流れと 100%の死亡率が観察された。

塩化ナトリウムの 0.9%溶液を 20ml / kg の用量で標準療法を行うと、群の動物の死亡率は 100%から 80%に低下した。

zcm 溶液の使用はより有意な減少を示し、実験の 7 日以内の死亡率が比較対象の 100%から 40%となった。

したがって、モデルの毒ショックに対する zcm 溶液の試験は、エンドトキシン・サルモネラ・エンテリカの様々な用量でその高い解毒活性を示した。