

**Исследовать
острой токсичности
пищевой добавки «ИММУНОСТОЛ»**

ПРОИЗВОДИТЕЛЬ: СМИЛО ООО, София, Болгария

ДАТА: 16.12.2011

СОДЕРЖАНИЕ

1. Введение	3
2.1. Функция	3
3. Острая (LD50) токсичность после перорального применения	3
3.1. Материал и методы	3
3.1.1. Пищевая добавка «Имуностол»	3
3.1.2. Лабораторные животные и условия выращивания	3
3.1.3. Наблюдаемые параметры	5
3.1.4. Наблюдение за животными и регистрация картины интоксикации.	5
Признаки опьянения – поведение и характеристика по дням	5
4. Результаты	5
4.1. Гибель животных	5
4.2. Признаки интоксикации	6
5. Выводы	7

ИССЛЕДОВАТЬ

Исследование острой токсичности
пищевой добавки «Имуностол»

СПОНСОР

"Агентство по качеству и безопасности товаров -
СМИЛО" ООО, зарегистрированное под фи.д.
№ 3174/2006 Согласно описи Госреестра,
ЕИК: 175055346, с местонахождением и адресом
управления г. София, г.к. «Яворов» бл. 23, вход 1
кв 3., в лице доктора Атанаса Смилова Смилова

ИССЛЕДОВАТЕЛЬ

Проф. д-р Н. Данчев, кмнэр
Проф. И. Николова, мэр
Йорданова М. - лаборант
М. Томова – техн. Партнер

ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР

Кафедра «Фармакологии, фармакотерапии и токсикологии»
Фармацевтический факультет
София, Болгария
Св. Дунай 2
1000 София, Болгария
Телефон: +3592-9236582
электронная почта: ndanchev@pharmfac.net

1. Введение

Компания ООО «СМИЛО» предоставила пищевую добавку «Имуностол» в твердых желатиновых капсулах: Для изучения острой токсичности при пероральном и внутрибрюшинном введении на белых мышах-самцах и самках.

2. Фармакологические вещества

2.1. Характеристика

Исследованные продукты и состав:

Содержимое 1 капсулы

Сухие экстракты

Эхинацея (<i>Echinacea Purpurea</i>)	100 мг
Эхинацея (<i>Echinacea angustifolia</i>)	50 мг
Белый березовый гриб «Чара» (<i>Inonotus obliquus</i>)	40 мг
Ройбуш (<i>Rooibos</i>)	10 мг

3. Острая (LD50) токсичность после перорального приема.

3.1. Материал и методы

3.1.1. Пищевая добавка «Имуностол»

3.1.2. Лабораторные животные и условия содержания

Для определения острой токсичности добавки «Имуностол» использовали 150 белых мышей-самцов и самок весом 18-20 г. из питомника г. Сливница, Болгария. Мышей разделили на 6 в каждой группе.

До начала токсикологических экспериментов мышей в течение одной недели выращивали в новых условиях вивария фармацевтического факультета и их пищевой рацион соответствовал питомнику. Все животные в эксперименте были здоровы, без каких-либо физиологических отклонений.

Вид	мышей
Порода	линия Н
Возраст до эксперимента	8-10 недель.
Масса тела	18-20 грамм (г)
Пол	Мужской Женский
Количество животных	150
Питание	Стандартное
Вода	вода, автоматическая лейка

Температура воздуха	20-26оС.
Влажность	30-70%
Освещенность	до 325 люкс на расстоянии 1 м от пола; 12-часовой фотопериод
Шум	до 85 дБ
Путь введения препарата	Перорально и внутрибрюшинно.
Кратность ввода	один раз
Продолжительность наблюдения	14 дней
Приготовление раствора	водных растворов с твином
Статистический метод	Степенная процедура ОЕСД 425, FDA-США

Для определения (ЛД50) пищевой добавки «Имуностол» ее растворяли в физиологическом растворе и вводили внутрь и внутрибрюшинно однократно в объеме 0,2 мл на 10 г массы тела и 0,1 мл на 10 г массы тела соответственно. В первые сутки после введения за животными наблюдали, отмечая общее состояние, поведение, интенсивность и характер двигательной активности, наличие судорог, тонус скелетных мышц, реакцию на тактильную боль, звуковые и световые раздражители, частоту и глубину дыхания, состояние волосяного и кожного покрова, положение хвоста, частота и консистенция каловых масс, частота мочеиспускания и цвет мочи. Животных, живых после первых и вторых суток, наблюдали и смертность регистрировали до 14 суток после введения пищевой добавки «Имуностол». Внутренние органы погибших животных были вскрыты с целью установления причины смерти.

Обработку полученных результатов проводили по процедуре OECD 425 Up and Down, одобренной Американским управлением по контролю за продуктами и лекарствами. Этот метод позволяет использовать меньшее количество животных и соответствует требованиям Европейского Союза.

В своей работе мы соблюдали Международные требования гуманного отношения с животными, а также нормы и требования Комиссии по этике Медицинского университета в Софии к работе с лабораторными животными.

3.1.3. Наблюдаемые параметры

3.1.4. Наблюдение за животными и регистрация картины интоксикации.

Острую токсичность проводили на мышах-самцах и самках двумя путями введения - пероральным и внутрибрюшинным.

Гибель животных – ежедневно

Признаки опьянения – поведение и характеристики по дням

4. Результаты

4.1. Смерть животных

Полученные данные позволили определить ЛД₅₀ после однократного перорального и внутрибрюшинного введения:

Иммуностол

Доза мг/кг	Способ применения перорально	
	Мыши-самцы	Мыши-самки
4000	0/6	0/6
6000	0/6	0/6
8000	0/6	0/6
10000	0/6	0/6

Иммуностол

Доза мг/кг	Внутрибрюшинный путь введения	
	Мыши-самцы	Мыши-самки
625	4/10	4/10
1250	4/6	5/6
2500	6/6	6/6

ЛД 50 при внутрибрюшинном введении мышам-самцам 847 мг/кг, а мышам-самкам – 690 мг/кг массы тела.

4.2. Признаки интоксикации

Наблюдаемая токсичность описана в следующей таблице.

Иммуностол капсулы

Путь проникновения	Вид животные	Токсические проявления
оральные	Мыши	Отсутствие токсических проявлений
внутрибрюшинно	Мыши	Поведенческие: слабость мышечного тонуса, нарушение двигательной активности, сонливость.

При наблюдении за животными после перорального введения во всех дозах до 10 г/кг массы тела не отмечалось токсических проявлений, таких как изменение количества и типа мочи, волосяного покрова и эпителия.

При вскрытии животных, погибших после внутрибрюшинного введения, макроскопических изменений во внутренних органах не обнаружено, что не позволило установить причину их смерти.

5. Выводы

Сравнительные данные по острой токсичности «Имуностола» при пероральном и внутрибрюшинном применении представлены в сводной таблице.

Имуностол

Доза мг/кг	Способ применения перорально	
	Мыши-самцы	Мыши-самки
4000	0/6	0/6
6000	0/6	0/6
8000	0/6	0/6
10000	0/6	0/6

Имуностол

Доза мг/кг	Внутрибрюшинный путь введения	
	Мыши-самцы	Мыши-самки
625	4/10	4/10
1250	4/6	5/6
2500	6/6	6/6

Значение LD50 представляет собой количество вещества, введенное однократно, которое вызывает гибель 50% /1/2/ группы подопытных животных и позволяет определить кратковременный токсикологический потенциал /острую токсичность/ тестируемых веществ. В наших исследованиях при внутрибрюшинном введении, что эквивалентно прямому поступлению в кровь, значения ЛД 50 у мышей-самцов составили 847 мг/кг, а у мышей-самок – 690 мг/кг массы тела, т.е. к группе слаботоксичных веществ. Надо отметить, что при таком пути введения вспомогательные вещества также могут оказывать действие, т.к. они предназначены для пероральных форм, а не для внутривенных. Эта пищевая добавка не предназначена для прямого внутривенного введения, так как Требования к таким лекарственным средствам чрезвычайно высоки и отличаются от требований к пероральному приему.

Гораздо более важным в данном случае является пероральный прием, который является будущим путем введения добавок людям, и было установлено, что ЛД50 пищевой добавки превышает 10 000 мг/кг массы тела для перорального приема, что по классификации Ходжа и Стернера относится к V классу, т.е. практически нетоксичные вещества. На практике при пероральном приеме в предельно высоких дозах (до 10 г) вещество «Имуностол» практически нетоксично.

16.12.2011

Подпись:

Проф. Н. Данчев, кмн

Заведующие кафедрой фармакологии, фармакотерапии и
токсикологии фармацевтического факультета, София

Проф. И. Николова, кмн

Лаборант Йорданова М.