

ВИЗНАЧЕННЯ ПАРАМЕТРІВ СЕРЕДНЬОСМЕРТЕЛЬНИХ ДОЗ ПРЕПАРАТІВ ФІЛІКСАН ТА ЩИТНИК, СТВОРЕНИХ НА ОСНОВІ КОРЕНЕВИЩА ПАПОРОТІ

О. Г. Малик¹, Ю. О. Приходько², Ж. М. Періг¹, О. Л. Тішин¹

¹Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів
та кормових добавок

²Харківська державна зооветеринарна академія

У статті наведено результати експериментальних досліджень на лабораторних тваринах по визначенню параметрів гострої токсичності протипаразитарних препаратів філіксан та щитник. Установлено, що препарат щитник належить до 4-го класу токсичності, тобто до малотоксичних речовин, а при підшкірному введенні — до 6-го класу токсичності (за класифікацією К. К. Сидорова). Ефірний екстракт чоловічої папороті — препарат філіксан відноситься до 4-го класу токсичності. Середньосмертельна доза при внутрішньошлунковому введенні становить 6666,7 мг/кг при обчисленні за методом Г. Кербера, а за методом Б. Штабського — 6944,4 (6691,2 ÷ 7197,6) мг/кг. Токсичність препарату щитник є нижчою, у порівнянні з токсичністю філіксану, проте за класом токсичності вони не відрізняються.

Потенційним джерелом поповнення арсеналу препаратів для ветеринарної медицини новими лікарськими засобами є рослинний світ, цілющі властивості якого відомі давно. Однак, біологічно активні речовини, які зумовлюють їх лікувальну ефективність, вивчені недостатньо. Протягом останніх десятиліть підвищену увагу дослідників привертає пошук нових антигельмінтних препаратів рослинного походження, які мають широкий спектр дії, низьку токсичність і не спричиняють побічної дії на організм тварин [1].

У ветеринарній практиці використовують, як антигельмінтний засіб, ефірний екстракт чоловічої папороті, відомий під назвою Філіксан. Однак, виготовлення екстрактів на основі етилового ефіру, потребує вдосконалення їх методів отримання. [2].

У зв'язку з цим нами розробляється препарат щитник, створений за безпечнішою технологією виготовлення на основі кореневища папороті чоловічої (*Filicis maris Spissum*).

Метою нашої роботи було визначити на лабораторних тваринах порівняльні аспекти гострої токсичності препаратів філіксан та щитник.

Матеріали і методи. Параметри гострої токсичності (величини середньосмертельних доз) філіксану та щитника визначали на білих щурах 2–3-місячного віку, масою 170–200 г. Препарати вводили лабораторним тваринам одноразово, натще, внутрішньошлунково, а ЛД₅₀ препарату щитник визначали і при підшкірному введенні [3, 4].

Після введення препаратів, протягом 14 діб, вели спостереження за лабораторними тваринами. При цьому враховували такі показники: зовнішній вигляд, поведінку тварин, стан шерсті і видимих слизових оболонок, поїдання корму, ритм і частоту дихання, час виникнення та характер інтоксикації, її важкість, перебіг, час загибелі тварин або їх одужання.

Токсичність філіксану визначали в діапазоні доз: 4500, 6500 та 9500 мг/кг маси тіла і на кожен дозу було використано по 3 лабораторних щура. Після цього проводили розгорнутий дослід на 6-и групах білих щурів по 6 тварин у кожній. Щурам вводили препарат у таких дозах: 4500, 5500, 6500, 7500, 8500 та 9500 мг/кг маси тіла. Для введення препарат розчиняли у суміші ПЕГ-400 з водою у співвідношенні 1:1. ЛД₅₀ препарату визначали за методами Г. Кербера та Б. Штабського [4]. Для досліджень використано 45 тварин.

Токсичність щитника при внутрішньошлунковому введенні визначали в діапазоні доз: 1300; 6500 та 13000 мг/кг і на кожен дозу було використано по 3 лабораторних щура. У результаті досліджень встановлено, що після застосування препарату у вказаних дозах всі тварини залишалися живими. Після цього провели дослід, в якому найвищу дозу препарату (13000 мг/кг), вводили 6 щурам. Дослід проведено у двох повторностях. Підшкірно щитник вводили 5-ти групам тварин по 6 тварин в кожній в таких дозах: 1300; 2600; 3900; 5200 та 6500 мг/кг маси тіла. Для цього його розчиняли в ПЕГ — 400 у співвідношенні 1:5. Всього для досліджень використано 51 лабораторних щурів.

Результати та обговорення. У результаті проведених досліджень по визначенню параметрів гострої токсичності філіксану встановлено, що після його введення в дозі 4500 мг/кг маси тіла загибелі білих щурів не виявлено, від дози 9500 мг/кг — загинули всі лабораторні тварини, від дози 6500 м/кг — із трьох тварин живою лишилася одна. Отже, встановили, що попередньо ЛД₀ для філіксану становить 4500 мг/кг, а ЛД₁₀₀ — 9500 мг/кг. Препарат у дозі 5500 мг/кг маси тіла і більше, спричиняє клінічні ознаки інтоксикації вже через 4–5 годин. Клінічні симптоми отруєння дослідних тварин характеризувалися порушенням координації рухів, сповільненим глибоким диханням, тремором окремих скелетних м'язів. Щури гинули залежно від дози препарату протягом першої доби. Результати досліджень та розрахунки представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

Визначення гострої токсичності препарату філіксан на білих щурах (за Г. Кербером)

Дози за препаратом, мг/кг	4500	5500	6500	7500	8500	9500
Вижило	6	4	3	2	1	0
Загинуло	0	2	3	4	5	6
Z		1,0	2,5	3,5	4,5	5,5
d		1000	1000	1000	1000	1000
z d		1000	2500	3500	4500	5500

ЛД₅₀ розраховували за формулою:

$$ЛД_{50} = ЛД_{100} - \Sigma (z d) / m$$

де: ЛД₁₀₀ — доза, від якої загинули всі тварини; Σ — символ суми;

z — половина загальної кількості тварин, які загинули від двох наступних доз;

d — різниця двох наступних доз;

m — кількість тварин у групі на кожен дозу.

Згідно з формулою, ЛД₅₀ за препаратом складає:

$$ЛД_{50} = 9500 - [(1000+2500+3500+4500+5500):6] = 6666,7 \text{ мг/кг}$$

За Б. Штабським залежність відсотка летальності (Y) від дози (X) може бути описана рівнянням прямої з кутовим коефіцієнтом (a):

$$Y = aX + b \quad (3),$$

де: b — вільний член.

Значення a та b визначали за формулами:

$$a = (Y_2 - Y_1) : (X_2 - X_1) \quad (4)$$

$$b = (\Sigma Y - a \Sigma X) : n \quad (5),$$

де: X₁ та X₂ — значення двох крайніх із трьох досліджених доз;

Y₁ та Y₂ — відповідні відсотки летальності;

n — число вказаних (досліджених) доз, яке рівне 3.

Знаючи a та b, вирішили рівняння (3) стосовно X:

$$X = (Y + b) : a \quad (6)$$

Відтак, послідовно підставляли у формулу (6) значення Y, які рівні 50, 84 і 16 %, знаходили ЛД₅₀, ЛД₈₄, ЛД₁₆ та розраховували σ , m, mt (t — критерій Стьюдента) та довірчі межі за формулою ЛД₅₀ \pm mt.

Згідно з отриманими даними досліджень на щурах встановлено:

Y	X
33,33	5500
66,66	7500
83,33	8500
$\Sigma Y = 183,32$	$\Sigma X = 21500$

Отже, a , згідно з формулою (4) $= (183,32 - 33,33) : (8500 - 5500) = 0,05$;

b , із формули (5) $= (183,32 - 0,05 \cdot x \cdot 21500) : 3 = -297,22$;

$LD_{50} = (50 + 297,22) : 0,05 = 6944,4$ мг/кг;

$LD_{84} = (84 + 297,22) : 0,05 = 7624,4$ мг/кг;

$LD_{16} = (16 + 297,22) : 0,05 = 6264,4$ мг/кг;

$2\alpha = LD_{84} - LD_{16} = 7624,4 - 6264,4 = 1360$;

$m = 2\alpha / \sqrt{2} \cdot N = 2 \times 1360 : (\sqrt{2} \times 18) = 120$;

$mt = 120 \times 2,11 = 253,2$;

$H_g = LD_{50} - mt = 6944,4 - 253,2 = 6691,2$;

$B_g = LD_{50} + mt = 6944,4 + 253,2 = 7197,6$

Таким чином, параметри середньосмертельної дози препарату філіксан при внутрішньошлунковому введенні щурам при обчисленні за методом Б. М. Штабського становили:

$$LD_{50} = 6944,4 (6691,2 \div 7197,6) \text{ мг/кг}$$

Із проведених досліджень встановлено, що LD_{50} препарату філіксан для щурів при внутрішньошлунковому введенні становить за методом Г. Кербера — 6666,7 мг/кг, а за методом Б. Штабського — 6944,4 (6691,2 ÷ 7197,6) мг/кг.

Отже, препарат філіксан при внутрішньошлунковому введенні за ГОСТ 12.1.007–76 відноситься до 4 класу токсичності, тобто до малотоксичних речовин [6].

Таблиця 2

Гостра токсичність щитника при внутрішньошлунковому введенні (n=3)

№ п/п	Доза препарату, мг/кг	Число загиблих тварин		
		всього	у %	Середній час загибелі
1	1300	0	0	0
2	6500	0	0	0
3	13000	0	0	0

Після внутрішньшлункового введення щитника в дозах 6500 та 13000 мг/кг встановлено короткочасне пригнічення тварин. На наступну добу змін в клінічному стані дослідних тварин не виявлено (табл. 2).

Отже, LD_{50} препарату щитник при внутрішньошлунковому введенні складає більше 13000 мг/кг.

При підшкірному введенні щитника у вищевказаних дозах загибелі білих щурів не виявлено (табл. 3).

Таблиця 3

Гостра токсичність щитника при підшкірному введенні (n=6)

№ п/п	Дози препарату, мг/кг	Число загиблих тварин		
		всього	у %	середній час гибелі
1	1300	0	0	0

2	2600	0	0	0
3	3900	0	0	0
4	5200	0	0	0
5	6500	0	0	0

У максимальній дозі (6500 мг/кг) клінічних симптомів отруєння у тварин не спостерігали. Отже, ЛД₅₀ щитника при підшкірному введенні є більше 6500 мг/кг.

Встановлено, що препарат щитник при внутрішньошлунковому введенні згідно з ГОСТ 12.1.007–76 відноситься до 4 класу токсичності (малотоксичні речовини), а при підшкірному введенні, згідно з класифікацією за К. К. Сидоровим (1973) — до 6 класу токсичності — відносно нешкідливих речовин.

В И С Н О В К И

1. Ефірний екстракт чоловічої папороті — препарат філіксан належить до 4-го класу токсичності, згідно з ГОСТ 12.1.007–76. ЛД₅₀ його становить 6666,7 мг/кг при обчисленні за методом Г. Кербера, а за методом Б. Штабського — 6944,4 (6691,2 ÷ 7197,6) мг/кг.

2. Препарат щитник, згідно з ГОСТ 12.1.007–76, належить до 4-го класу токсичності, тобто до малотоксичних речовин, а при підшкірному введенні — до 6-го класу токсичності (за класифікацією К. К. Сидорова).

3. Токсичність препарату філіксан вища, у порівнянні з препаратом щитник, проте, за класом токсичності вони обидва належать до 4 класу — малотоксичні речовини.

Перспективи подальших досліджень. Перспективним напрямком подальших досліджень є вивчення токсичності препарату щитник у хронічному досліді, кумулятивних властивостей, мутагенності та його антигельмінтної дії.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ СРЕДНЕСМЕРТЕЛЬНЫХ ДОЗ ПРЕПАРАТОВ ФИЛИКСАН И ЩИТНИК, СОЗДАНЫХ НА ОСНОВЕ КОРНЕВИЩА ПАПОРОТНИКА

О. Г. Малик, Ю. А. Приходько, Ж. Н. Периг, О. Л. Тишин

А Н Н О Т А Ц И Я

В статье представлены результаты экспериментальных исследований на лабораторных животных по определению параметров острой токсичности противопаразитарных препаратов филиксан и щитник. Установлено, что препарат щитник относится к 4-му классу токсичности, то есть к малоопасным веществам, а при подкожном введении — к 6-му классу (за классификацией К. К. Сидорова). Эфирный экстракт мужского папоротника — препарат филиксан принадлежит к 4-му классу токсичности. Среднесмертельная доза при внутрижелудочном введении составляет 6666,7 мг/кг при вычислении за методом Г. Кербера, а за методом Б. Штабского — 6944,4 (6691,2 ÷ 7197,6) мг/кг. Уровень токсичности препарата щитник ниже, по сравнению с филиксаном, однако за классом токсичности они не отличаются.

PARAMETERS DETERMINATION OF MIDDLEDEATH DOSES OF PREPARATIONS OF FILIKSAN AND SHCHYTNYK, PRODUCED ON BASIS OF FERN RHIZOME

O. G. Malyk, Y. O. Pryhod'ko, J. M. Perih, O. L. Tishyn

S U M M A R Y

The results of experimental researches carried out on laboratory animals for determination sharp toxicity parameters of antiparasite preparations filiksan and “Shchytnyk” are given in the article. It was set, that preparation belongs to the 4th class of toxicity, that is lowtoxic substance, and at hypodermic injection — to the 6th class of toxicity (after classification of K. K. Sydorov).

Ether extract of masculine fern — preparation of filiksan belongs to the 4th class of toxicity. Middle mortal dose at inherent injection makes 6666,7 mg/kg at calculation after the method of G. Kerber, and after the method of B. Shtabsky — 6944,4 (6691,2 — 7197,6) mg/kg. Toxicity of preparation “Shchytnyk” is lower, comparing to toxicity of filiksan, however by the class of toxicity they do not differ.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Максютина Н. П.* Растительные лекарственные средства. — К. : Здоров'я, 1985 — 280 с.
2. *Косенко М. В., Малик О. Г.* Ветеринарні фітопрепарати : Довідник. — Львів : Сполом, 2001 — 288 с.
3. Токсикологічний контроль нових засобів захисту тварин : Методичні рекомендації / М. В. Косенко, О. Г. Малик, І. Я. Коцюмбас та ін. — К. : 1997. — 34 с.
4. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / І. Я. Коцюмбас, О. Г. Малик, І. П. Патерега та ін. ; За ред. І. Я. Коцюмбаса — Львів : Тріада плюс, 2006. — 360 с.
5. *Маланин Л. П., Морозов А. П., Селиванова А. С.* Методические указания по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве // Ветеринарные препараты: Справочник / Под ред. А. Д. Третьякова. — М.: Агропромиздат, 1988. — С. 239–289.
6. ГОСТ 12.1.007–76. ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. — Введ. 01.01.77. — Проверен 01.10.81; Изменён № 1; Переиздан 01.12.81 — М. : Изд-во стандартов, 1982. — 6 с.