

УДК 619:615:616.99

doi: 10.31016/1998-8435-2021-15-3-76-82

Оригинальная статья

Изучение острой токсичности лекарственного препарата для ветеринарного применения Ивербутан

Евгения Николаевна Индюхова, Гульнара Бакитовна Арисова, Ирина Петровна Белых,
Дмитрий Сергеевич Поселов, Алексей Александрович Степанов

Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук», Москва, Россия 117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28, e-mail: indyuhova@vniigis.ru

Поступила в редакцию: 10.06.2021; принята в печать: 15.07.2021

Аннотация

Цель исследований: изучение острой пероральной токсичности лекарственного препарата для ветеринарного применения Ивербутан, предназначенного для лечения и профилактики арахноэнтомозов и нематодозов сельскохозяйственных птиц.

Материалы и методы. Исследования проводили на 30 аутбредных беспородных самцах крыс массой тела 210–240 г и 60 мышках массой тела 18–21 г. Животных разделили на опытные и контрольные группы. Препарат вводили однократно без разведения в виде предоставленного раствора с помощью внутрижелудочного зонда. На мышках были испытаны дозы 2000, 4000, 6000, 8000 и 10 000 мг/кг, на крысах – 10 000, 8000, 5000, 4000 мг/кг. Животным контрольных групп вводили питьевую воду. В течение 14 сут после однократной дачи препарата проводили наблюдение за физиологическим состоянием и поведением животных, возможной гибелью, а также проявлением симптомов интоксикации. Контроль массы тела животных опытных и контрольных групп осуществляли в день постановки опыта (до введения препарата), а также на 1, 3, 7, 9 и 14-е сутки.

Результаты и обсуждение. Установлено, что при пероральном введении опытным животным Ивербутан среднесмертельная доза, рассчитанная по методу Кербера, составила 5600 мг/кг массы тела мышей и 7000 мг/кг массы тела крыс (4 класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76). Среднесмертельная доза, рассчитанная по методу Миллера и Тейнтера, составила $5292,0 \pm 1058,6$ ($4233,4 \div 6350,6$) мг/кг массы тела мышей и $6463,2 \pm 1496,9$ ($4966,3 \div 7960,1$) мг/кг массы тела крыс (3 класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76), что свидетельствует о видовой чувствительности.

Ключевые слова: Ивербутан, ивермектин, острая токсичность, мыши, крысы, среднесмертельная доза

Прозрачность финансовой деятельности: в представленных материалах или методах никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности.

Конфликт интересов отсутствует

Для цитирования: Индюхова Е. Н., Арисова Г. Б., Белых И. П., Поселов Д. С., Степанов А. А. Изучение острой токсичности лекарственного препарата для ветеринарного применения Ивербутан // Российский паразитологический журнал. 2021. Т. 15. № 3. С. 76–82.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2021-15-3-76-82>

© Индюхова Е. Н., Арисова Г. Б., Белых И. П., Поселов Д. С., Степанов А. А., 2021



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.
The content is available under Creative Commons Attribution 4.0 License.

Original article

Study of the acute toxicity of the medicinal product for veterinary use Iverbutan

Evgenia N. Indyuhova, Gulnara B. Arisova, Irina P. Belykh,
Dmitry S. Poselov, Alexey A. Stepanov

All-Russian Scientific Research Institute for Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plant – a branch of the Federal State Budget Scientific Institution “Federal Scientific Centre VIEV”, Moscow, Russia 28, B. Chermushkinskaya st., Moscow, 117218; e-mail: indyuhova@vniigis.ru

Received on: 10.06.2021; accepted for printing on: 15.07.2021

Abstract

The purpose of the research is to study the acute oral toxicity of the medicinal product for veterinary use Iverbutan, intended for the treatment and prevention of arachnoentomoses and nematodoses of poultry.

Materials and methods. The studies were carried out on 30 outbred male rats weighing 210–240 g and 60 mice weighing 18–21 g. The animals were divided into experimental and control groups. The drug was administered once without dilution in the form of the provided solution using an intragastric tube. Doses of 2000, 4000, 6000, 8000 and 10 000 mg/kg were tested on mice, and on rats – 10 000, 8000, 5000, 4000 mg/kg. The animals of the control groups were injected with drinking water. Within 14 days after a single dose of the drug, the physiological state and behavior of animals, possible death, as well as the manifestation of symptoms of intoxication were monitored. The control of the body weight of the animals of the experimental and control groups was carried out on the day of the experiment (before drug administration), as well as on the 1st, 3rd, 7th, 9th and 14th days.

Results and discussion. It was found that after oral administration of iverbutan to experimental animals, the average lethal dose, calculated by the Kerber method, was 5600 mg/kg of body weight in mice and 7000 mg/kg of body weight in rats (hazard class 4 according to GOST 12.1.007-76). The average lethal dose, calculated by the Miller and Tainter method, was 5292.0 ± 1058.6 ($4233.4 \div 6350.6$) mg/kg of body weight in mice and 6463.2 ± 1496.9 ($4966.3 \div 7960.1$) mg/kg of body weight of rats (hazard class 3 according to GOST 12.1.007-76), which indicates species sensitivity.

Keywords: Iverbutan, ivermectin, acute toxicity, mice, rats, medium lethal dose

Financial Disclosure: none of the authors has financial interest in the submitted materials or methods.

There is no conflict of interests

For citation: Indyuhova E. N., Arisova G. B., Belykh I. P., Poselov D. S., Stepanov A. A. Study of the acute toxicity of the medicinal product for veterinary use Iverbutan. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2021; 15 (3): 76–82. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2021-15-3-76-82>

© Indyuhova E. N., Arisova G. B., Belykh I. P., Poselov D. S., Stepanov A. A., 2021

Введение

Разработка новых комбинированных противопаразитарных средств требует проведения их комплексной оценки по токсикологическим свойствам с целью исключения возникновения отрицательного влияния на организм животных и человека [9].

Разработана рецептура лекарственного препарата для ветеринарного применения Ивербутан, которая в качестве действующих

веществ содержит 0,4% ивермектина и 10% бутафосфана. Вспомогательные компоненты данной фармакологической композиции: респланта жожоба, бензиловый спирт, ДЭМЭ, твин-80, вода дистиллированная [1]. Лекарственная форма: раствор для приема внутрь.

Известно, что ивермектин (22, 23-дигидроавермектин В1), состоящий из основного компонента – 22, 23-дигидроавермектина В1а и минорного компонента – 22, 23-дигидроа-

вермектина V1b, является одним из наиболее активных соединений авермектинового ряда [12]. Препараты на основе ивермектина обладают широкой противопаразитарной активностью, однако многие из них могут вызывать ряд нежелательных побочных эффектов [13, 14]. Поэтому для широкого производственного применения нового противопаразитарного препарата необходимо определить его токсикологические параметры.

Основной целью данной работы стало изучение острой пероральной токсичности лекарственного препарата для ветеринарного применения Ивербутан на лабораторных мышках и крысах.

Материалы и методы

Экспериментальная часть работы проведена в условиях вивария ВНИИП – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН.

В качестве тест-системы для установления острой токсичности препарата использовали белых беспородных крыс и мышей. Подбор грызунов в группы проводили произвольно методом «случайных чисел», используя в качестве критерия массу тела. Индивидуальные значения массы тела не отклонялись от среднего значения в группе более чем на 10%.

Мышей и крыс содержали в поликарбонатных клетках, покрытых стальными решетчатыми крышками с кормовым углублением, по 10 и 6 голов соответственно. В качестве подстилки использовали древесные опилки. Лабораторных животных кормили полнорационным комбикормом. Температурно-влажностный режим экспериментальной секции вивария соответствовал нормативным значениям. Все манипуляции с животными проведены в соответствии с регламентирующими стандартами [3, 10, 11].

Для изучения параметров острой пероральной токсичности Ивербутан сформированы 5 опытных и 1 контрольная группы (по 10 особей в каждой) из мышей-самцов массой 18–21 г и 4 опытных и 1 контрольная группы (по 6 особей в каждой) из крыс-самцов массой 210–240 г. Масса животных указана на время введения препарата.

Препарат животным вводили однократно без разведения в виде предоставленного раствора с помощью внутрижелудочного зонда. На мышках были испытаны дозы 2000, 4000,

6000, 8000 и 10 000 мг/кг, что соответствовало 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 и 0,10 мл на 10 г массы тела животного. На крысах были испытаны дозы 10000 мг/кг (1,0 мл на 100 г массы тела), 8000 мг/кг (0,8 мл на 100 г массы тела), 5000 мг/кг (0,5 мл на 100 г массы тела), 4000 мг/кг (0,4 мл на 100 г массы тела). Животным контрольных групп вводили питьевую воду в следующих дозах: мышам – 0,10 мл на 10 г массы тела, крысам – 1,0 мл на 100 г массы тела.

В течение 14 сут проводили наблюдение за физиологическим состоянием и поведением животных, проявлением симптомов интоксикации, а также возможной гибелью. Массу тела лабораторных животных из опытных и контрольных групп учитывали в день постановки опыта (до введения препарата), а также на 1, 3, 7, 9 и 14-е сутки опыта [6–8].

Для обработки экспериментальных данных использовали методы Кербера, Миллера и Тейнтера.

Результаты и обсуждение

В ходе эксперимента установлена зависимость скорости наступления гибели от величины вводимой дозы. Так, наибольшая доза 10 000 мг/кг вызвала падеж всех особей группы в течение 12 ч. От дозы 8000 мг/кг пало 8 голов; гибель регистрировали в течение первых суток после введения. Животные после введения доз 10 000 и 8000 мг/кг на всем протяжении опыта были угнетены, аппетит снижен. Перед гибелью мыши принимали боковое положение. От дозы 6000 мг/кг регистрировали гибель одной головы в течение 5 минут после введения препарата; еще 5 голов погибли в течение 24 ч. В дозе 4000 мг/кг регистрировали гибель 3 голов в течение первых суток после введения. Признаков интоксикации у выживших мышей не выявлено. При патологоанатомическом вскрытии всех павших животных из опытных групп отмечали гиперемию слизистой оболочки желудка и кишечника, а также вздутие кишечника.

Доза 2000 мг/кг не привела к гибели животных. Признаков интоксикации у мышей данной группы не было выявлено. Общее состояние животных первой опытной группы было удовлетворительным, изменений в поведении не отмечено, аппетит и жажда не были изменены, судорог не наблюдали, координация движений не нарушена; реакция на тактильные,

болевые, звуковые и световые раздражители адекватная; целостность кожного покрова не нарушена, эластичность сохранена, гиперемия отсутствовала; окраска видимых слизистых оболочек соответствовала норме; частота и глубина дыхательных движений, а также ритм сердечных сокращений не изменены.

При наблюдении за динамикой массы тела отмечали, что данный показатель у мышей первой, второй и третьей опытных групп во все периоды взвешивания статистически достоверно не отличался от контроля. Среднее значение массы животных четвертой опытной группы, получившей дозу 8000 мг/кг, было ниже аналогичных значений у контрольной группы на 3, 7, 9 и 14-е сутки взвешивания: 19,0 г против 22,30 г; 21,50 г против 24,10 г; 23,0 г против 26,0 г; 24,50 г против 27,70 г (в связи с гибелью 8 голов четвертой опытной группы доверительный интервал не был рассчитан из-за недостаточного количества данных).

В ходе эксперимента на крысах было выявлено, что наибольшая доза 10 000 мг/кг вызвала падеж всех особей группы в течение 5 ч опыта. При наблюдении за животными, получившими дозу 10 000 мг/кг, отмечали одышку, возбуждение, тремор, постепенно переходящие в приступы клонических судорог, которые повторялись с промежутками разной длительности и заканчивались гибелью. При патологоанатомическом вскрытии павших животных было отмечено, что желудок крыс растянут кормовыми массами, стенки истончены, на слизистой оболочке точечные и полосчатые кровоизлияния.

Доза 8000 мг/кг вызвала угнетение общего состояния животных, а также снижение аппетита и активности. На первые сутки зарегистрирована гибель одной особи. На 3-и сутки зарегистрирована гибель 3 крыс из данной группы. В течение первых семи суток опыта отмечали увеличение объема живота у двух животных данной группы, что свидетельствует о тимпании желудка и двенадцатиперстной кишки; также у них обнаруживали несформированные фекалии. При патологоанатомическом вскрытии павших животных было отмечено, что желудок крыс растянут кормовыми массами, стенки истончены, на слизистой оболочке точечные и полосчатые кровоизлияния. На момент окончания опыта признаков диареи и тимпании не регистрировали.

Животные, получившие дозу 5000 мг/кг, в течение первых суток опыта были угнетены, малоподвижны, аппетит был снижен. На первые сутки зарегистрирована гибель одной особи с клиническими признаками тимпании кишечника и желудка, диареи, кахексии и дегидратации организма.

В течение 14 сут наблюдения за животными, получившими препарат в дозе 4000 мг/кг: признаков интоксикации, а также гибели не отмечено. Общее состояние крыс было удовлетворительным, изменений в поведении не отмечено, аппетит и жажда не изменены, судорог не наблюдали, координация движений не нарушена; тонус скелетных мышц соответствовал норме; реакция на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители была адекватной; шерсть – гладкой, блестящей, участков алопеций не выявлено; целостность кожного покрова не нарушена, эластичность сохранена, гиперемия отсутствовала; окраска видимых слизистых оболочек соответствовала норме; частота и глубина дыхательных движений, а также ритм сердечных сокращений не изменены; фекалии темно-коричневого цвета, плотной консистенции характерной овально-продолговатой формы со специфическим запахом, количество соответствовало объему потребленного корма.

На начальном этапе эксперимента показатели массы тела животных опытных групп достоверно не отличались от живой массы контрольной группы крыс. В ходе проведения эксперимента выявлена достоверная разница показателей живой массы животных всех опытных групп по сравнению с контрольной группой.

В связи с гибелью четырех животных во второй опытной группе доверительный интервал не был рассчитан из-за недостаточного количества данных. Однако, средние значения массы животных, получивших дозу 8000 мг/кг, были ниже аналогичных значений у контрольной группы во все периоды взвешивания.

Динамика массы тела мышей и крыс в течение эксперимента приведена на рис. 1 и 2.

За все время опыта выявлена статистически достоверная разница показателей процента прироста живой массы животных: у мышей третьей опытной группы по сравнению с контрольными аналогами составила $32,54 \pm 8,32\%$ против $47,5 \pm 6,78\%$, у крыс третьей и четвер-

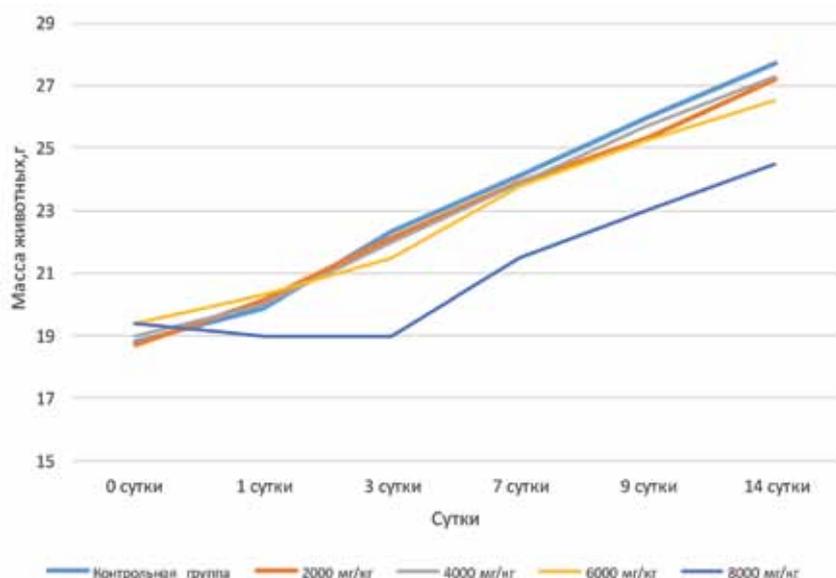


Рис. 1. Динамика массы тела мышей
[Fig. 1. Dynamics of body weight of mice]

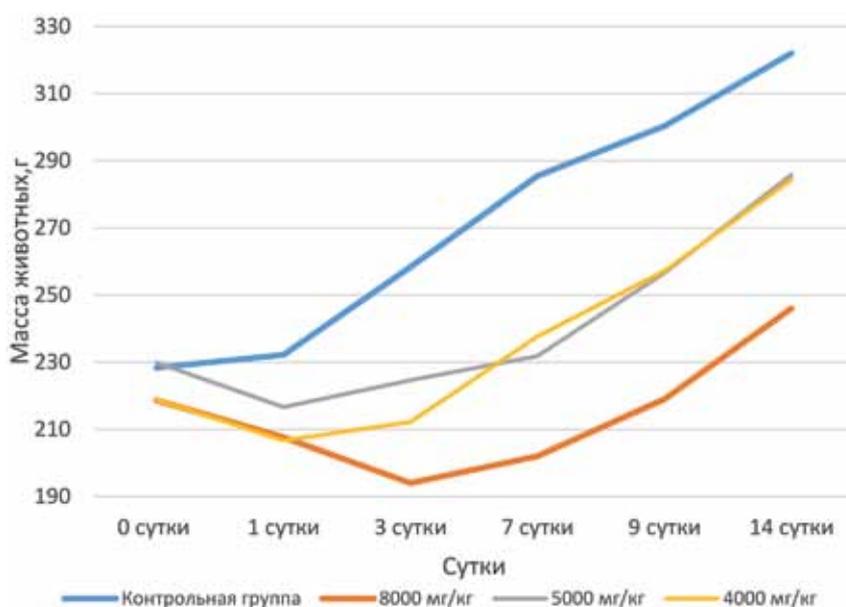


Рис. 2. Динамика массы тела крыс
[Fig. 2. Dynamics of body weight of rats]

той опытных групп в сравнении с контрольной группой – 23,40 и 29,91% против 41,09%.

При пероральном введении опытным животным Ивербутана среднесмертельная доза (ЛД₅₀), рассчитанная по методу Кербера, составила 5600 мг/кг массы тела мышей и 7000 мг/кг массы тела крыс. Среднесмертельная доза, рассчитанная по методу Мил-

лера и Тейнтера, составила 5292,0±1058,6 (4233,4÷6350,6) мг/кг массы тела мышей и 6463,2±1496,9 (4966,3÷7960,1) мг/кг массы тела крыс, что свидетельствует о видовой чувствительности. В работах Емельяновой Н. Б. (2013) [4] и Защепкиной В. В. (2020) [5] также отмечена видовой чувствительность препарата на основе ивермектина и его суб-

станции при определении среднесмертельной дозы соответственно.

Заключение

Изучена острая пероральная токсичность лекарственного препарата для ветеринарного применения Ивербутан на самцах лабораторных мышей и крыс. Согласно общепринятой гигиенической классификации препарат отнесен к 3 классу опасности – вещества «умеренно опасные» [2] с учетом ЛД₅₀, рассчитанной по методу Миллера и Тейнтера.

Список источников

1. Арисов М. В., Кожина А. В., Индюхова Е. Н. Моделирование рецептуры комбинированного препарата при паразитозах птиц с оптимизацией их обмена веществ и неспецифической резистентности // Материалы XII научно-практической конференции памяти проф. В. А. Ромашова «Современные проблемы общей и прикладной паразитологии». Воронеж, 2018. С. 92-97.
2. ГОСТ 12.1.007-76. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности.
3. Директива 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях.
4. Емельянова Н. Б. Острая пероральная и кожная токсичность противопаразитарных солевых брикетов на лабораторных животных // Российский паразитологический журнал. 2013. № 4. С. 97-99.
5. Защепкина В. В. Острая пероральная токсичность супрамолекулярного комплекса ивермектина // Российский паразитологический журнал. 2020. Т. 14. Вып. 1. С. 59-63. DOI: <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2020-14-1-59-63>
6. Рецкий М. И., Каверин Н. Н., Аргунов М. Н. Токсикология. Часть 1: учебное пособие для ВУЗов. Воронеж, 2006. 55 с.
7. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
8. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общей редакцией член-корр. РАМН, проф. Р. У. Хабриева. М.: Медицина, 2005. 832 с.
9. Arisov M. V., Urazaev D. N., Kachanova E. O., Pavlova A. S. General principles of conducting preclinical toxicology studies of antiparasitic drugs for veterinary use // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science: III International Scientific Conference: AGRITECH-III-2020: Agribusiness, Environmental Engineering and Biotechnologies. Volgograd, Krasnoyarsk, 18-20 июня 2020 года / Krasnoyarsk Science and Technology City Hall of the Russian Union of Scientific and Engineering Associations. Volgograd, Krasnoyarsk: Institute of Physics and IOP Publishing Limited, 2020. P. 42042. DOI <https://doi.org/10.1088/1755-1315/548/4/042042>
10. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123). Strasbourg, 1986.
11. Guide for the care and use of laboratory animals. National Academy press. Washington, D. C., 1996.
12. Laing R., Gillan V., Devaney E. Ivermectin – old drug, new tricks? Trends in parasitology. 2017; 33(6): 463-472.
13. Sutherland I. H., Campbell W. C. Development, pharmacokinetics and mode of action of ivermectin. Acta Leidensia. 1990; 59(1-2): 161-168.
14. Woodward K. N. Macrocyclic lactone endectocides. Mammalian Toxicology of Insecticides. 2012; 12. 427-464.

References

1. Arisov M. V., Kozhina A. V., Indyuhova E. N. Modeling the formulation of a combined preparation for parasitosis of birds with the optimization of their metabolism and nonspecific resistance. *Materialy XII nauchno-prakticheskoy konferentsii pamyati prof. V. A. Romashova «Sovremennyye problemy obshchey i prikladnoy parazitologii» = Materials of the XII scientific-practical conference in memory of prof. V. A. Romashova "Modern problems of general and applied parasitology"*. Voronezh, 2018; 92-97. (In Russ.)
2. GOST 12.1.007-76. Harmful substances. Classification and general safety requirements.
3. Directive 2010/63 / EU of the European Parliament and of the Council of the European Union of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes.
4. Emelyanova N. B. Acute oral and cutaneous toxicity of antiparasitic salt briquettes on laboratory animals. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2013; 4: 97-99. (In Russ.)

5. Zashchepkina V. V. Acute oral toxicity of the supramolecular complex of ivermectin. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2020; 14(1): 59-63. DOI: <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2020-14-1-59-63> (In Russ.)
6. Retskiy M. I., Kaverin N. N., Argunov M. N. Toxicology. Part 1. Textbook for universities. Voronezh, 2006; 55. (In Russ.)
7. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part 1. M.: Grif i K, 2012; 944. (In Russ.)
8. Guidelines for experimental (preclinical) study of new pharmacological substances / Under the general editorship of Corresponding Member. RAMS, prof. R. U. Khabrieva M.: Medicine, 2005; 832. (In Russ.)
9. Arisov M. V., Urazaev D. N., Kachanova E. O., Pavlova A. S. General principles of conducting preclinical toxicology studies of antiparasitic drugs for veterinary use. In: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science: III International Scientific Conference: AGRITECH-III-2020: *Agribusiness, Environmental Engineering and Biotechnologies*. Volgograd, Krasnoyarsk, 18-20 июня 2020 года / Krasnoyarsk Science and Technology City Hall of the Russian Union of Scientific and Engineering Associations. Volgograd, Krasnoyarsk: Institute of Physics and IOP Publishing Limited, 2020; 42042. DOI <https://doi.org/10.1088/1755-1315/548/4/042042>
10. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123). Strasbourg, 1986.
11. Guide for the care and use of laboratory animals. National Academy press. Washington, D. C., 1996.
12. Laing R., Gillan V., Devaney E. Ivermectin – old drug, new tricks? *Trends in parasitology*. 2017; 33(6): 463-472.
13. Sutherland I. H., Campbell W. C. Development, pharmacokinetics and mode of action of ivermectin. *Acta Leidensia*. 1990; 59(1-2): 161-168.
14. Woodward K. N. Macrocyclic lactone endectocides. *Mammalian Toxicology of Insecticides*. 2012; 12. 427-464.