

Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print
ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10005
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:616.001.8:615.099:599.23

Study of the parameters of acute toxicity of the drug “Devimectin 1 %” with a single subcutaneous injection in white rats

Yu. R. Hunchak¹, B. V. Gutyj¹, R. M. Sachuk², Ya. S. Stravsky³

¹Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Ukraine

²Rivne State University for the Humanities, Rivne, Ukraine

³I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine

Article info

Received 25.09.2020

Received in revised form

26.10.2020

Accepted 27.10.2020

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.

Rivne State University for the
Humanities, Plastova Str., 29-a,
Rivne, 33028, Ukraine.
Tel.: +38-097-671-90-63
E-mail: sachuk.08@ukr.net

I. Horbachevsky Ternopil
National Medical University,
Freedom Square, 1, Ternopil,
46001, Ukraine.

Hunchak, Yu. R., Gutyj, B. V., Sachuk, R. M., & Stravsky, Ya. S. (2020). Study of the parameters of acute toxicity of the drug “Devimectin 1 %” with a single subcutaneous injection in white rats. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(100), 28–31. doi: 10.32718/nvlvet10005

In the study of the drug for injectable use – “Devimectin 1 %”, together with the confirmation of therapeutic properties, it is necessary to determine the LD₅₀ obtained in the study of acute toxicity. The aim of the work was to study the acute toxicity of “Devimectin 1 %” in white rats by injection. To fulfill this goal on the principle of analogues was formed control and three experimental groups of 4 animals each (n = 4). The drug was administered in doses of 5000.0; 10000.0; 20000.0 mg/kg body weight in absolute weight of the drug once subcutaneously in the withers. The control animals were injected subcutaneously with sterile saline 1.0 cm³. After taking into account the results of the previous experiment in the main experiment, 7 experimental groups were formed, whose rats were injected subcutaneously with “Devimectin 1 %” in doses of 5000.0; 7500.0; 10000.0; 12500.0; 15000.0; 17500.0 and 20000.0 mg/kg body weight, as well as a control group to which animals were injected with sterile saline with a volume of 1.0 cm³. There were 6 animals in each group (n = 6). It was found that for the administration of the drug at a dose of 5000 mg / kg body weight, no animal died, for 10000.0 and 20000.0 mg/kg body weight, respectively, one and 4 animals died. Death occurred for 2–6 days depending on the administered dose. In the main experiment with subcutaneous administration of “Devimectin 1 %” at a dose of 5000.0 mg/kg body weight during the 14-day period of the study, no animal died; for the introduction of the drug at a dose of 7500.0 mg/kg killed one animal; for 10000.0 – 2; for 12500.0 and 15000.0 – 3 rats; for 17500.0 – 5 rats and for the introduction of the drug at a dose of 20000.0 mg/kg body weight, all experimental animals died. The death of laboratory animals occurred for 2–6 days depending on the administered dose. According to the results of studies, it was found that the LD₅₀ of the drug “Devimectin 1 %” under the conditions of its single subcutaneous administration to female rats is 12881.20 ± 1390.54 mg/kg, LD₁₀ – 5978.43 mg/kg, LD₁₆ – 7495.68 mg/kg, LD₈₄ – 18266.73 mg/kg, LD₉₀ – 19783.98 mg/kg, LD₁₀₀ – 20959.49 mg/kg body weight, respectively. Therefore, the drug “Devimectin 1%” when administered subcutaneously can be classified as toxicity class VI – substances relatively harmless (LD_{50subcut} > 4500,0 mg/kg). Further studies will be the next step in pre-registration trials to examine the subacute toxicity of “Devimectin 1 %”.

Key words: rats, toxicity, dose, lethality, “Devimectin 1 %”.

Дослідження параметрів гострої токсичності препарату “Девімектин 1 %” за одноразового підшкірного введення білим щурам

Ю. Р. Гунчак¹, Б. В. Гутій¹, Р. М. Сачук², Я. С. Стравський³

¹Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

²Рівненський державний гуманітарний університет, м. Рівне, Україна

³Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Тернопіль, Україна

При дослідженні препарату для ін'єкційного застосування – “Девімектин 1 %” поряд із підтвердженням терапевтичних властивостей необхідним є визначення показника LD_{50} отриманого в процесі вивчення гострої токсичності. Метою роботи стало дослідження гострої токсичності препарату “Девімектин 1 %” на білих щурах за ін'єкційного введення. Для виконання поставленої мети за принципом аналогів було сформовано контрольну і три дослідні групи по 4 тварини в кожній ($n = 4$). Препарат вводили в дозах 5000,0; 10000,0; 20000,0 мг/кг маси тіла за абсолютною масою препарату одноразово підшкірно в ділянці холки. Тваринам контрольної групи підшкірно вводили стерильний фізіологічний розчин об'ємом 1,0 см³. Після обліку результатів попереднього досліді в основному експерименті було сформовано 7 дослідних груп, щурам яким підшкірно вводили “Девімектин 1 %” в дозах – 5000,0; 7500,0; 10000,0; 12500,0; 15000,0; 17500,0 і 20000,0 мг/кг маси тіла, а також контрольну групу, тваринам яким вводили стерильний фізіологічний розчин об'ємом 1,0 см³. У кожній групі було по 6 тварини ($n = 6$). Встановлено, що за введення препарату в дозі 5000 мг/кг маси тіла жодна тварина не загинула, за 10000 і 20000 мг/кг маси тіла відповідно загинули одна і 4 тварини. Загибель відбувалася на 2–6 добу в залежності від введеної дози препарату. У основному досліді за підшкірного введення “Девімектин 1 %” в дозі 5000,0 мг/кг маси тіла протягом 14-добового терміну дослідження жодна тварина не загинула; за введення препарату в дозі 7500,0 мг/кг загинула одна тварина; за 10000,0 – 2; за 12500,0 і 15000,0 – по 3 щури; за 17500,0 – 5 щурів і за введення препарату в дозі 20000,0 мг/кг маси тіла всі дослідні тварини загинули. Загибель лабораторних тварин відбувалася на 2–6 добу в залежності від введеної дози препарату. За результатами досліджень установили, що LD_{50} препарату “Девімектин 1 %” за умов його одноразового підшкірного введення щурам-самкам складає $12881,20 \pm 1390,54$ мг/кг, $LD_{10} = 5978,43$ мг/кг, $LD_{16} = 7495,68$ мг/кг, $LD_{84} = 18266,73$ мг/кг, $LD_{90} = 19783,98$ мг/кг, $LD_{100} = 20959,49$ мг/кг маси тіла відповідно. Отже, препарат “Девімектин 1 %” при підшкірному введенні за токсичністю можна віднести до VI класу – речовини відносно нешкідливі ($LD_{50subcut} > 4500,0$ мг/кг). Подальші дослідження будуть черговим етапом передресстраційних випробувань спрямованих на вивчення підгострої токсичності ін'єкційного препарату “Девімектин 1 %”.

Ключові слова: щури, токсичність, доза, летальність, “Девімектин 1 %”.

Вступ

Для профілактики та лікування оленів, собак, котів і кролів нематодів, шлунково-кишкового тракту, легневих нематодів, ектопаразитів ПП “Біофарм” розроблено новий препарат для ін'єкційного застосування – “Девімектин 1 %”, до складу якого входить івермектин.

Обов'язковою умовою застосування нових лікарських препаратів є попередні доклінічні та клінічні випробування, у першу чергу токсикологічні дослідження на лабораторних тваринах (Gutyj et al., 2016; 2017; 2018; Todoruk et al., 2018). Ця умова знайшла своє відображення в Гельсінкській декларації Всесвітньої медичної асоціації “Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта дослідження” і в Законі про ветеринарну медицину України. На результати досліджень, у тому числі щодо токсичного впливу речовин на організм, можуть суттєво впливати і супутні чинники, такі як стан та утримання тварин, їх статеві особливості та ін. Тому першим етапом дослідження має стати одержання інформації щодо дії досліджуваної речовини в умовах короткотривалого експерименту та визначення перспектив подальших випробувань.

Однією з важливих токсикологічних характеристик лікарських засобів є нешкідливість, що характеризується середньотоксичною (середньолетальною) дозою препарату – LD_{50} . При дослідженні генеричного лікарського засобу поряд із підтвердженням терапевтичних властивостей необхідним є визначення показника LD_{50} отриманого в процесі вивчення гострої токсичності. Це дозволяє визначити клас токсичності препарату, широту його терапевтичної дії і співвідношення токсичність / нешкідливість за умов застосування препарату в дозах, що в десятки і сотні разів перевищують терапевтичну.

Метою роботи стало дослідження гострої токсичності препарату “Девімектин 1 %” на білих щурах за ін'єкційного введення.

Матеріал і методи досліджень

У досліді використовували препарат “Девімектин 1 %” (1 мл препарату містить діючу речовину: івермектин – 10 мг), серія № 012, форма випуску 100 мл, виготовлений ТОВ “ДЕВІЕ” (сmt. Літин, Україна). Експеримент було проведено на 64 самках нелінійних білих щурів 3–4-місячного віку і масою (170–190) г, що утримувались за оптимальних умов віварію (Zapadniuk, 1983; Kotsiumbas, 2005; Karkyshchenko & Hrachev, 2010): температура у приміщенні складала (18 ± 2) °С, відносна вологість повітря 60–70 %, цикл освітлення день–ніч, упродовж експерименту, складав 10–14 год, а також було забезпечено 10-ти разову зміну об'єму повітря в кімнаті віварію за годину.

Для годівлі щурів використовували повнораціонний комбікорм для гризунів. Тварини мали вільний доступ до води та корму.

Перед початком досліджень кожен тварину зважували. Дози, що вводили, розраховували індивідуально, відповідно до маси кожного щура, при цьому об'єм препарату, що вводили підшкірно за один раз, не перевищував 10,0 см³. Визначення діапазону доз для основного експерименту проводили у попередньому досліді.

З цією метою в попередньому експерименті за принципом аналогів було сформовано контрольну і три дослідні групи по 4 тварини в кожній ($n = 4$). Препарат вводили в дозах 5000,0; 10000,0; 20000,0 мг/кг маси тіла за абсолютною масою препарату одноразово підшкірно в ділянці холки. Тваринам контрольної групи підшкірно вводили стерильний фізіологічний розчин об'ємом 1,0 см³.

Після обліку результатів попереднього досліді в основному експерименті було сформовано 7 дослід-

них груп, шурам яким підшкірно вводили “Девімектин 1 %” в дозах – 5000,0; 7500,0; 10000,0; 12500,0; 15000,0; 17500,0 і 20000,0 мг/кг маси тіла, а також контрольну групу, тваринам яким вводили стерильний фізіологічний розчин об’ємом 1,0 см³. У кожній групі було по 6 тварини (n = 6).

Слід зазначити, що маніпуляції над шурами здійснювали відповідно до існуючих нормативних документів (European convention..., 1986; Council Directive 86/609/EEC; Stattia 26 Zakonu Ukrainy № 5456-VI, 2012), що регламентують організацію робіт із використанням експериментальних тварин і дотриманням принципів “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях” (Страсбург, 1986).

Результати та їх обговорення

За результатами загибелі вираховували LD₁₀, LD₁₆, LD₅₀, LD₈₄, LD₉₀, LD₁₀₀ та похибку LD₅₀ методом пробіт-аналізу в модифікації В. Б. Прозоровського (GOST 12.1.007-76. SSBT).

Отримані результати обробляли методами варіаційної статистики з використанням пакета програм StatPlus 5.9.8.5. Дані представляли у вигляді середніх значень зі стандартним відхиленням за рівнем довірчої ймовірності 95 %.

Таблиця 2

Динаміка загибелі шурів в основному досліді за визначення гострої токсичності препарату “Девімектин 1 %” (n = 48)

Групи шурів і дози, мг/кг маси тіла	Строки загибелі шурів, через				Усього загинуло	
	1–3 доба	4–5 діб	6–9 діб	10–14 діб		
Контроль	–	–	–	–	–	
Дослід	I (5000,0)	–	–	–	–	
	II (7500,0)	–	–	1	–	1
	III (10000,0)	–	1	1	–	2
	IV (12500,0)	–	1	2	–	3
	V (15000,0)	–	2	1	–	3
	VI (17500,0)	–	2	3	–	5
VI (20000,0)	1	3	2	–	6	

Наступним етапом вивчення токсикологічних характеристик препарату “Девімектин 1 %” було визначення середньоletalної дози та її стандартної похибки (LD₅₀, LD₁₀, LD₁₆, LD₈₄, LD₉₀, LD₁₀₀).

Середньоletalну дозу LD₅₀ розраховували за методом пробіт-аналізу за Прозоровським В. Б. Токсикометричні параметри препарату, розраховували за методом найменших квадратів для пробіт-аналізу кривих летальності. Встановлено відсоток летальності, пробіти (Y), вагові коефіцієнти пробітів (Z).

Для побудови графіка на осі абсцис відкладали значення доз препарату (мг/кг), а на осі ординат – значення ефекту (%).

Графічне зображення кривої, що відображає залежність “доза-ефект” для шурів представлено на рис. 1.

У результаті попереднього досліді отримані наступні дані (табл. 1); за введення препарату в дозі 5000 мг/кг маси тіла жодна тварина не загинула, за 10000 і 20000 мг/кг маси тіла відповідно загинули одна і 4 тварини. Загибель відбувалася на 2–6 добу в залежності від введеної дози препарату.

Таблиця 1

Динаміка загибелі шурів у попередньому досліді за визначення гострої токсичності препарату “Девімектин 1 %” (n = 16)

Контроль	Групи шурів і дози, мг/кг маси тіла (тварини, що вижили/тварини, що загинули)		
	Дослід		
	I (5000,0)	II (10000,0)	III (20000,0)
0/4	0/4	1/3	4/0

У основному досліді (табл. 2) за підшкірного введення “Девімектин 1 %” в дозі 5000,0 мг/кг маси тіла протягом 14-добового терміну дослідження жодна тварина не загинула; за введення препарату в дозі 7500,0 мг/кг загинула одна тварина; за 10000,0 – 2; за 12500,0 і 15000,0 – по 3 шура; за 17500,0 – 5 шурів і за введення препарату в дозі 20000,0 мг/кг маси тіла всі дослідні тварини загинули. Загибель лабораторних тварин відбувалася на 2–6 добу в залежності від введеної дози препарату.

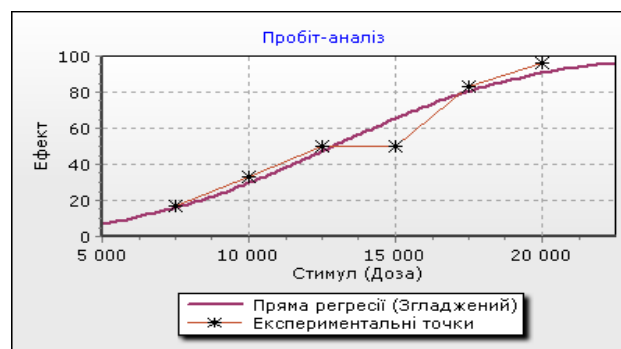


Рис. 1. Крива летальності шурів-самок за умов одноразового підшкірного введення препарату “Девімектин 1 %”

Результати обчислення середньолетальної дози препарату для щурів за умов перорального введення наведено у таблиці 3.

За результатами досліджень установили, що LD₅₀ препарату “Девіметин 1 %” за умов його одноразового

підшкірного уведення шурам-самкам складає 12881,20 ± 1390,54 мг/кг, LD₁₀ – 5978,43 мг/кг, LD₁₆ – 7495,68 мг/кг, LD₈₄ – 18266,73 мг/кг, LD₉₀ – 19783,98 мг/ кг, LD₁₀₀ – 20959,49 мг/кг маси тіла відповідно.

Таблиця 3

Результати обчислення летальних доз препарату “Девіметин 1 %” за умов одноразового перорального введення шурам-самкам

Стимул (Доза)	Відсоток (%)	N	Пробіг (Y)	Ваговий коефіцієнт (Z)
7500	0,1667	6	4,0326	3,5653
10000	0,3333	6	4,5697	4,5697
12500	0,5000	6	5,0000	5,0000
15000	0,5000	6	5,0000	5,0000
17500	0,8333	6	5,9674	3,5653
20000	0,9583	6	6,7320	1,5359
Регресійна статистика				
LD ₅₀	12881,20		LD ₅₀ Стандартна похибка	1390,54
LD ₁₀	5978,43	LD ₁₆	7495,68	
LD ₈₄	18266,73	LD ₉₀	19783,98	
LD ₁₀₀	20959,49			

Отже, препарат “Девіметин 1 %” при підшкірному введенні за токсичністю можна віднести до VI класу – речовини відносно нешкідливі (LD_{50subcut} > 4500,0 мг/кг) (Kotsiumbas, 2005).

Висновки

За результатами досліджень установили, що LD₅₀ препарату “Девіметин 1 %” за умов його одноразового підшкірного уведення шурам-самкам складає 12881,20 ± 1390,54 мг/кг. Препарат “Девіметин 1 %” при підшкірному введенні за токсичністю можна віднести до VI класу – речовини відносно нешкідливі (LD_{50subcut} > 4500,0 мг/кг).

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження будуть черговим етапом передреєстраційних випробувань спрямованих на вивчення підгострої токсичності ін’єкційного препарату “Девіметин 1 %”.

References

Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. Official Journal of the European Communities L 358, 1–29.

European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (1986). Council of Europe. Strasbourg. URL: <https://rm.coe.int/168007a67b>.

GOST 12.1.007-76. SSBT. Vrednye veshhestva. Klassifikacija i obshhie trebovanija bezopasnosti. M.: Izd-vo standartov (in Russian).

Gutyj, B., Grymak, Y., Hunchak, V., Mysak, A., Nazaruk, N., Brezvyin, O., Hariv, I., Shcherbaty, A., Semeniv, B., Bushueva, I., Parchenko, V., & Kaplaushenko, A. (2018). Preclinical searches of the preparation Thireomagnile. *Ukrainian Journal of Ecology*, 8(1), 688–695. doi: 10.15421/2018_267.

Gutyj, B., Khariv, I., Binkevych, V., Binkevych, O., Levkivska, N., Levkivskij, D., & Vavrysevich, Y. (2017). Research on acute and chronic toxicity of the experimental drug Amprolinsyl. *Regul. Mech. Biosyst.*, 8(1), 41–45. doi: 10.15421/021708.

Gutyj, B., Paska, M., Levkivska, N., Pelenyo, R., Nazaruk, N., & Guta, Z. (2016). Study of acute and chronic toxicity of ‘injectable mevesel’ investigational drug. *Biological Bulletin of Bogdan Chmelnytsky Melitopol State Pedagogical University*, 6(2), 174–180. doi: 10.15421/201649.

Karkyshchenko, N. N., & Hrachev, S. V. (2010). *Rukovodstvo po laboratornym zhyvotnym y alternatyvnym modeliam v byomedycynskyykh yssledovaniyah*. M.: Profyl (in Russian).

Kotsiumbas, I. Ya. (2005). *Doklinichni doslidzhennia veterynarnykh likarskykh zasobiv*. Lviv: Triada plus. (in Ukrainian).

Stattia 26 Zakonu Ukrainy № 5456-VI vid 16.10.2012 r. “Pro zakhyst tvaryn vid zhorstokoho povodzhennia”. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text> (in Ukrainian).

Todoriuk, V. B., Hunchak, V. M., Gutyj, B. V., Gufriy, D. F., Hariv, I. I., Khomyk, R. I., & Vasiv, R. O. (2018). Preclinical research of the experimental preparation “Feroseel T”. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 1(1), 3–9. doi: 10.32718/ujvas1-1.01

Zapadniuk, Y. V. (1983). *Laboratornye zhyvotnye. Razvedenye, sodержanye, yspolzovanye v eksperymente*. K.: Vyshcha shkola (in Ukrainian).