

**Изследване  
на острата токсичност  
на хранителна добавка “ИМУНОСТОЛ”**

**ПРОИЗВОДИТЕЛ: СМИЛО ЕООД, София, България**

**ДАТА : 16.12.2011**

**СЪДЪРЖАНИЕ**

1. Въведение .....	3
2.1. Характеристика .....	3
3. Остра (LD <sub>50</sub> ) токсичност след перорално прилагане.....	3
3.1. Материал и методи .....	3
3.1.1. Хранителни добавки “Имуностол” .....	3
3.1.2. Лабораторни животни и условия на отглеждане .....	3
3.1.3. Наблюдавани параметри .....	5
3.1.4. Наблюдение на животните и регистрация на картината на интоксикация. ....	5
Признаци на интоксикацията – поведение и характеристика ежедневно .....	5
4. Резултати.....	5
4.1. Смърт на животните .....	5
4.2. Признаци на интоксикация .....	6
5. Изводи .....	7
6. Литература.....	9

## **ИЗСЛЕДВАНЕ**

Изследване на острата токсичност на хранителна добавка “Имуностол”

## **СПОНСОР**

“Агенция качеството и безопасност на стоките – СМИЛО”  
ЕООД, регистрирано по ф.д. № 3174/2006 г. По описа на  
СГС, ЕИК: 175055346, със седалище и адрес на  
управлението в гр. София, ж.к. “Яворов” бл. 23, вх. 1 ап. 3.,  
представявано от д-р Атанас Смилов Смилов

## **ИЗСЛЕДОВАТЕЛ**

Проф. Д-р Н. Данчев, кмн

Доц. И. Николова, кмн

М. Йорданова - лаборант

М. Томова – техн. сътрудник

## **ИЗСЛЕДОВАТЕЛСКИ ЦЕНТЪР**

Катедра “Фармакология, фармакотерапия и  
Токсикология”

Фармацевтичен Факултет

София, България

Ул. Дунав 2

1000 София, България

Тел:+3592-9236582

e-mail: ndanchev@pharmfac.net

# 1. Въведение

От фирмата “СМИЛО” ЕООД беше предоставена хранителна добавка “Имуностол” в твърди желатинови капсули: За изследване на остра токсичност след перорално и интраперитонеално прилагане на мъжки и женски бели мишки.

## 2. Фармакологични вещества

### 2.1. Характеристика

Изследвани продукти и състав:

Съдържание на 1 капсула

Суши екстракти от

Ехинацея (Echinacea Purpurea) – 100 mg

Ехинацея (Echinacea Angustifolia) 50 mg

Гъба от Бяла бреза “Чара”

(Inonotus obliquus) 40 mg

Ройбос (Rooibos) - 10 mg

## 3. Остра ( $LD_{50}$ ) токсичност след перорално прилагане

### 3.1. Материал и методи

#### 3.1.1. Хранителни добавки “Имуностол”

#### 3.1.2. Лабораторни животни и условия на отглеждане

За определяне на острата токсичност на добавката “Имуностол” са използвани 150 бели мъжки и женски мишки с тегло 18–20 г., от развъдника на гр. Сливница, България. Мишките бяха разделени на по 6 във всяка група

До началото на токсикологичните експерименти мишките се отглеждаха в продължение на една седмица във новите условия на вивариува на Фармацевтичен факултет и техния хранителен рацион съответстваше на този във развъдника. Всички животни в опита бяха здрави без каквито и да е физиологични отклонения.

Вид	мишки
Порода	Линия Н
Възраст до експеримента	8-10 седмици
Телесна маса	18-20 г
Пол	Мъжки женски
Количество животни	150
Храна	стандартна
Вода	вода, автопоилка

Температура въздуха	20 – 26°C
Влажност	30-70%
Осветление	до 325 лукс на разстояние 1 м от пода; 12 часов фотопериод
Шум	до 85 дБ
Път на въвеждане на препаратa	Перорален и интраперитонеален
Кратност на въвеждане	еднократно
Продължителност на наблюдение	14 дни
Приготвяне на раствора	водни разтвори с твин
Статистически метод	ОЕСД 425 степенна процедура, FDA-САЩ

За определяне на (ЛД<sub>50</sub>) на хранителната добавка “Имуностол” я разтворяхме във физиологичен разтвор и въвеждахме перорално и интраперитонеално еднократно в обем 0,2 мл на 10 г телесна маса и 0,1 мл на 10 г телесна маса съответно. Първият ден след въвеждането животните бяха под наблюдение, като се отбелязваше общото състояние, поведението, интензивността и характера на двигателната активност, наличието на гърчове, тонуса на скелетната мускулатура, реакция на тактилни болкови, звукови и светлинни дразнителни, честотата и дълбочината на дишането, състоянието на космения и кожното покритие, положението на опашката, количество и консистенция на фекалните маси, честотата на уриниране и цвета на урината. Живите след първия и втория ден животни се наблюдаваха и отчиташе леталитета до 14 ден след въвеждането на хранителната добавка “Имуностол”. При умрелите животни се аутопсираха вътрешните органи с цел определяне причината на смъртта.

Обработката на получените резултати се провеждаше по метода OECD 425 Up and Down procedure одобрена от Американската агенция за лекарства и храни . Този метод позволява използване на по малък брой животни и съответства на изискванията на Европейския съюз.

При работата си съблюдавахме Международните изисквания за хуманно отношение към животните, а също така нормите и изискванията на Етичната комисия при Медицински университет в София за работа с лабораторни животни.

### 3.1.3. Наблюдавани параметри

### 3.1.4. Наблюдение на животните и регистрацията на картината на интоксикация.

Острата токсичност бе проведена върху мъжки и женски мишки при два пътя на въвеждане – перорално и интраперитонеално.

Смърт на животните – ежедневно

## Признаци на интоксикацията – поведение и характеристика ежедневно

### 4. Резултати

#### 4.1. Смърт на животните

Получените данни позволиха да се определи LD50 при еднократно перорално и интраперитонеално въвеждане :

#### Имуностол

Доза мг/кг	Път на въвеждане перорално	
	Мишки мъжки	Мишки женски
4000	0/6	0/6
6000	0/6	0/6
8000	0/6	0/6
10000	0/6	0/6

#### Имуностол

Доза мг/кг	Път на въвеждане интраперитонеално	
	Мишки мъжки	Мишки женски
625	4/10	4/10
1250	4/6	5/6
2500	6/6	6/6

ЛД 50 при интраперитонеално въвеждане при мъжки мишки 847 мг/кг , а при женски – 690 мг/кг телесна маса.

## 4.2. Признаци на интоксикация

Наблюдаваните токсични прояви са описани в следната таблица.

### Имуностол капсули

Път на въвеждане	Вид животни	Токсически прояви
перорално	Мишки	Няма токсични прояви
интраперитонеално	Мишки	<b>Поведенчески:</b> слабост на мускулния тонус нарушена двигателна активност, сънливост

При наблюдението на животните след перорално прилагане във всички дози до 10 г /кг телесна маса не бяха отбелязани никакви токсични прояви, както промяна в количеството и вида на урината, космените покривки и епител.

При аутопсия на животните загинали след интраперитонеално прилагане не бяха установени макроскопски промени във вътрешните органи, което не позволи да се установи причината за смъртта им.

## 5. Изводи

Сравнителните данни за острата токсичност на “Имуностол” при перорално и интраперитонеално прилагане е представена на обобщената таблица.

### Имуностол

Доза мг/кг	Път на въвеждане перорално	
	Мишки мъжки	Мишки женски
4000	0/6	0/6
6000	0/6	0/6
8000	0/6	0/6
10000	0/6	0/6

### Имуностол

Доза мг/кг	Път на въвеждане интраперитонеално	
	Мишки мъжки	Мишки женски
625	4/10	4/10
1250	4/6	5/6
2500	6/6	6/6

LD50 стойността представлява количеството вещество давано еднократно което предизвиква гибел на 50% / 1/2/ на групата от тест животни и позволява да се определи краткосрочния токсикологичен потенциал /остра токсичност/ на изследвани субстанции. При нашите изследвания при интраперитонеално, което е еквивалентно на директно попадане в кръвта прилагане, стойностите на ЛД 50 при мъжки мишки са 847 мг/кг , а при женски – 690 мг/кг телесна маса, т.е. към групата на слаботоксичните вещества. Дължни сме да отбележим, че при този път на въвеждане действие може да оказват и помощните вещества, т.к. те са за перорални форми, а не за интравенозни форми. Тази хранителна добавка не е предназначена за директна венозна инфузия, т.к. изискванията за такива лекарствени средства са изключително високи и различни от тези за перорално прилагане . Много по важно в случая е перорално въвеждане което е бъдещия път на прилагане на добавките при хора и беше установено , че LD<sub>50</sub> на

хранителната добавка е по-голямо от 10 000 mg kg т. маса при перорално прилагане което по класификацията на Hodge и Sterner е V клас, т.е. практически нетоксични вещества. На практика при прилагането си през устата в изключително високи дози до 10 гр. веществото “Имуностол” е практически нетоксично.

16.12.2011

Подпис:

Проф. Н. Данчев, кмн

Ръководите Катедра “Фармакология фармакотерапия и токсикология, Фармацевтичен факултет, София

Доц. И. Николова, кмн

Лаборант М. Йорданова



## **6. Литература**

Hodge HC, Sterner JH. Tabulation of toxicity classes. *Am. Ind. Hyg.* (1949) 10:93 –96.

OECD (Organisation for Cooperation and Development). *Guidance for the testing of chemicals OECD 425 Acute oral toxicity: Up-and-Down Procedure*. 1998, Paris.