

DOI <https://doi.org/10.32782/2786-9067-2024-27-5>

УДК 615.099:615.285.7:614.7

ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ ПРОФІЛЬ ІНСЕКТИЦИДУ ЦИТРІОДІОЛУ®

Кузьмінов Б.П., Зазуляк Т.С., Кузьмінов О.Б., Лукасевич Н.Ф., Чемодурова Н.Є.
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів, Україна

Анотація. В останнє десятиліття для боротьби з комарами активно використовують інсектициди, отримані з рослин. Перед їх застосуванням необхідно проводити оцінку їх токсичності на лабораторних тваринах. Метою роботи було експериментальне встановлення параметрів токсичності інсектициду Цитріодіолу® з визначення характеру біологічної дії на організм теплокровних тварин та обґрунтуванням гранично допустимої концентрації у повітрі робочої зони.

Інсектицид Цитріодіол® досліджували в гострих, підгострих і хронічних експериментах. Робота була проведена на лабораторних тваринах (білих щурах-самцях, білих мишах-самцях, мурчаках та кролях). Установлено, що інсектицид Цитріодіол® за параметрами гострої токсичності за однократного перорального введення належить до малонебезпечних речовин (4-й клас небезпечності). Середня смертельна доза для білих щурів становить 5940 мг/кг. Клінічна картина гострого отруєння характеризується симптомами ураження центральної нервової системи та подразнювальної дії. Клінічні ознаки токсичного ефекту найбільш виражені у тварин, які отримали речовину в дозах 7000–11000 мг/кг. Загибель тварин фіксувалася на тлі адинамії, арефлексії у першу добу дослідження. Однократний інгаляційний вплив Цитріодіолу® загибелі білих мишей та білих щурів не викликає. У клінічній картині гострої інгаляційної токсичності спостерігаються симптоми подразнення верхніх дихальних шляхів та гіподинамія. Цитріодіол® проявляє слабкий подразнювальний ефект за попадання на шкіру та сильно виражений подразнювальний ефект – за попадання на слизові оболонки. Субхронічне пероральне введення Цитріодіолу® викликає розвиток клінічної картини інтоксикації, яка розвивається на 20–21 добу експерименту і проявляється зменшенням рухової активності. Коефіцієнт кумуляції перевищує 8,0 і свідчить про слабку кумулятивну активність. Хронічний інгаляційний вплив Цитріодіолу® загибелі тварин не викликає. Спостерігаються зменшення маси тіла, зміна гематологічних і біохімічних показників стану організму лабораторних тварин.

Цитріодіол® не викликає сенсibiliзації за нанесення на шкіру та не проявляє мутагенних властивостей.

Висновки. Установлено параметри токсичності, характер біологічної дії на організм лабораторних тварин та обґрунтовано гранично допустиму концентрацію інсектициду Цитріодіолу® в повітрі робочої зони.

Ключові слова: інсектицид, Цитріодіол®, параметри токсичності, гранично допустима концентрація, повітря робочої зони.

Вступ. В останнє десятиліття для боротьби з комарами активно використовують ботанічні інсектициди – природні токсичні речовини, отримані з рослин [1]. Прикладами таких сполук можуть бути піретрум, ротенон, сабаділ, рiаній, нікотин і азадірахтин. Проте «натуральні» не означає безпечні, адже деякі ботанічні інсектициди можуть бути досить небезпечними для людини, інших ссавців, птахів та риби. Перед їх широким застосуванням необхідно проводити оцінку їх токсичності [4].

Цитріодіол® – це природна активна речовина для використання в засобах від комарів та інших членистоногих. Основним компонентом Цитріодіолу® є пара-ментан-3,8-діол (CAS № 42822-86-6) – сполука, яка в природі міститься в листі дерева *Eucalyptus citriodora*. Комерційно його створюють за допомогою процесу хімічного синтезу. Отримана сполука подібна і функціонально ідентична речовині, яка отримана біохімічним методом.

Існує вісім можливих ізомерів пара-ментан-3,8-діолу і точний склад рідко вказується. Зазвичай декларується, що Цитріодіол® – це складна суміш.

Станом на жовтень 2016 р. інсектицид Цитріодіол® був перереєстрований як «масло евкаліпту цитріодору, гідратоване, циклізоване» згідно з CAS № 1245629-80-4. Ця зміна назви була

ініційована Європейським агентством хімічних речовин (ЕСНА), щоб краще відображати його ботанічне походження [4; 6].

В Україні ТзОВ «СК Джонсон» (м. Київ) використовує олію евкаліпта цитріодора, гідратовану, циклізовану (Цитріодіол®) виробництва фірми Citrefine International Limited (Великобританія) для виготовлення лосьйону від комах. Загальна кількість препарату, який використовується у виробництві, – 1000 кг на рік. Кількість залучених у виробництві працівників – 8 осіб.

Мета дослідження. Експериментальне встановлення параметрів токсичності інсектициду Цитріодіолу® з визначенням характеру біологічної дії на організм теплокровних тварин та обґрунтуванням гранично допустимої концентрації (ГДК) у повітрі робочої зони.

Матеріали та методи досліджень. Хімічна назва за ІУРАС: олія евкаліпта цитріодора, гідратована, циклізована. Реєстраційний номер за CAS: 1245629-80-4. Хімічний клас – терпенові спирти. Торгова назва: Цитріодіол® (Citriodiol®).

Синоніми: Олія лимонного евкаліпта, Олія лимонного евкаліпта, гідратована, циклізована, п-ментан-3,8-діол і споріднені сполуки олії лимонного евкаліпта, «суміш цис- і транс-п-ментан-3,8-діолу/цитріодіолу», PMD Rich Botanic Oil.

За агрегатним станом Цитріодіол® – в'язка рідина з характерним цитрусовим запахом, від блідо-жовтого до коричневого кольору, що містить білі кристали. Точка плавлення – 50–60°C. Точка кипіння – 267°C при 103630 Па. Тиск пари – 0,0638 Па при 25°C. Відносна щільність – 0,942 г/мл при 40°C. Розчинність у воді становить 670,7 мг/л при 25°C. Розчинність у н-гексані >250 г/л, 20°C, ацетоні >250 г/л, 20°C [6].

Робота була проведена на лабораторних тваринах (білих щурах-самцях, білих мишах-самцях, мурчаках та кролях), які утримувалися в умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Тварини в експериментальних групах отримували стандартний гранульований корм із необмеженим доступом до питної води. Під час проведення досліджень на тваринах дотримувалися принципів біоетики, законодавчих норм та вимог згідно з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» [5] та «Порядком проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» [3].

Результати та їх обговорення. За параметрами гострої пероральної токсичності Цитріодіол® – малотоксична сполука (4-й клас небезпечності, згідно з Наказом МОЗ України № 1596 [2]). Середня смертельна доза (DL_{50}) для білих щурів становить 5940 мг/кг.

Клінічна картина гострого отруєння характеризується такими симптомами: часте переривчасте дихання, прострація, згорблена спина, знижена активність, хитка хода, відмова від їжі. Клінічні ознаки токсичного ефекту найбільш виражені у тварин, які отримали речовину в дозах 7000–11000 мг/кг. Загибель тварин фіксувалася на тлі адинамії, арефлексії у першу добу дослідження. Під час патоморфологічного дослідження тварин, що загинули, спостерігалася повнокров'я внутрішніх органів, гіперемована слизова оболонка шлунку.

Однократну інгаляційну дію Цитріодіолу® визначали на 10 білих мишах в умовах статичного затруєння. Експозиція тривала 2 год. Оцінку гострого інгаляційного токсичного впливу здійснювали шляхом щоденної реєстрації загального стану тварин, їхньої активності, виміру маси тіла, частоти дихання та частоти серцевих скорочень. Клінічна картина гострої інгаляційної токсичності характеризувалася такими симптомами: подразнення верхніх дихальних шляхів, незначне збудження, яке змінювалося загальмованістю тварин та гіподинамією. Нормалізація стану тварин відзначалася протягом 1-ї доби. Жодна з тварин не загинула як під час інгаляції, так і протягом наступних 14 днів спостереження. За весь час спостереження загальний стан тварин не змінювався, не встановлено значущої різниці в показниках частоти дихання, частоти серцевих скорочень та маси тварин.

За даними літератури [7], середня смертельна концентрація (CL_{50}) Цитріодіолу® у повітрі для щурів перевищує 2170 мг/м³.

Із метою встановлення порогової концентрації за однократного інгаляційного впливу (Lim_{ac}) Цитріодіол® вводили інтраназально білим щурам-самцям у дозах, що відповідали концентраціям у повітрі 16 мг/м³, 64,1 мг/м³ та 192,3 мг/м³.

Критеріями оцінки токсичного впливу на організм тварин були показники, що характеризують систему кров'яного гемостазу, зокрема рівень гемоглобіну, кількість еритроцитів і лейкоцитів, біохімічні параметри крові: активність лужної фосфатази, аспаратамінотрансферази (АСТ), аланінамінотрансферази (АЛТ), рівні білірубину, загального білку, сечовини, креатиніну, частота дихання, показники функціональної активності центральної нервової системи (ЦНС).

За результатами досліджень було встановлено, що однократний інгаляційний вплив Цитріодіолу® в усіх досліджених концентраціях не викликав загибелі піддослідних тварин. Клінічні симптоми інтоксикації характеризувалися зниженням рухової активності упродовж 2–3 год від початку експерименту. Зміни частоти дихання не зафіксовано.

Як Lim_{ac} Цитріодіолу® прийнята концентрація 64,1 мг/м³, за дії якої у піддослідних тварин через 2 год спостерігалось статистично достовірне зниження сумарно порогового показника (СПП). Решта досліджуваних показників суттєво не відрізнялися порівняно з контролем.

Цитріодіол® проявляє слабкий подразнювальний ефект за попадання на шкіру та сильно виражений подразнювальний ефект – за попадання на слизові оболонки [8].

Кумулятивну активність Цитріодіолу® визначали в субхронічному експерименті за методикою Ліма і співавторів. Препарат вводили щоденно білим щурам у поступово (через кожні 4 дні) наростаючих дозах. Початковий рівень впливу становив 594 мг/кг (1/10 DL_{50}). Клінічна картина інтоксикації розвивалася на 20–21 добу і проявлялася у зменшенні рухової активності.

Загибелі тварин не зафіксовано. Коефіцієнт кумуляції (K_{cum}) перевищує 8,0 і свідчить про слабку кумулятивну активність Цитріодіолу®.

Для встановлення порогової концентрації Цитріодіолу® за хронічного інгаляційного впливу (Lim_{ch}) проведено експериментальні дослідження за умов інтраназального введення речовини впродовж чотирьох місяців білим щурам-самцям у дозах, що відповідали концентраціям 3,2 мг/м³, 16 мг/м³ і 48 мг/м³.

Як критерії токсичного впливу були використані інтегральні та специфічні показники (загальний аналіз та біохімічні показники крові, СПП, поведінкові реакції).

За дії препарату в усіх концентраціях упродовж усього терміну дослідження загибелі тварин не спостерігалось. Поведінка, зовнішній вигляд щурів, споживання їжі та води у дослідних групах суттєво не відрізнялися від таких у групі контролю.

Під час патоморфологічних досліджень відмінностей у гістологічній картині досліджуваних тканин внутрішніх органів тварин експериментальних і контрольної груп не виявлено.

У тварин, яких піддавали впливу препарату в концентрації 48 мг/м³, статистично достовірно зменшувалася маса тіла, знижувалася кількість еритроцитів, збільшувалися концентрації у сироватці крові АСТ і АЛТ, знижувався СПП.

Концентрацію Цитріодіолу® 16 мг/м³ за показниками зміни СПП та зменшення маси тіла визначено як Lim_{ch} . Зона хронічної дії (Z_{ch}) дорівнює 4–3-му класу небезпечності.

За рівня впливу Цитріодіолу® 3,2 мг/м³ змін досліджуваних показників не зафіксовано.

Цитріодіол® не викликає сенсibilізації під час нанесення на шкіру та не проявляє мутагенних властивостей у тесті Еймса на штаммах TA98, TA100, TA1535 і TA1537 *Salmonella typhimurium* [7].

Ураховуючи встановлені параметри токсичності (DL_{50} , CL_{50} , Lim_{ac} , K_{cum} , Lim_{ch} , Z_{ch}) та віддалені наслідки дії як ГДК Цитріодіолу® в повітрі рекомендовано рівень 5,0 мг/м³, аерозоль, 3-й клас небезпечності, позначка + – потребує спеціального захисту очей.

Висновки. Інсектицид Цитріодіол® за параметрами гострої токсичності за одноразового внутрішньошлункового введення та однократного нанесення на шкіру належить до малонебез-

печних речовин (4-й клас небезпечності), за однократного інгаляційного впливу – до помірно небезпечних речовин (3-й клас небезпечності), не володіє шкірно-резорбтивною дією, проявляє слабкий подразнювальний ефект у разі попадання на шкіру та сильно виражений подразнювальний ефект – за попадання на слизові оболонки, не викликає сенсibiliзацію організму. Мутагенні властивості не виявлено. ГДК Цитріодіолу® в повітрі робочої зони 5,0 мг/м³, аерозоль, 3-й клас небезпечності, позначка + – потребує спеціального захисту очей.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Біологічний контроль шкідників: особливості та переваги. *Агродовідник*. 2020. <https://enzim-agro.com/agrodirectory/biologichnij-kontrol-shkidnikiv-osoblivosti-ta-perevagi>
2. Гігієнічні регламенти допустимого вмісту хімічних і біологічних речовин у повітрі робочої зони (затверджені Наказом МОЗ від 14.07.2020 № 1596, зареєстрованим у Мін'юсті 03.08.2020 за № 741/35024). <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0741-20#Text>
3. Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах : Наказ Міністерства освіти, науки, молоді та спорту України.
4. Escartin S., Mariani S. Evaluating the toxicity of oil of lemon eucalyptus, *Corymbia citriodora* (Hook.), against larvae of the Asian tiger mosquito and non-target fish and larval amphibians. *Anales de Biología*. 2014. 36: 97–105. ARTICLE DOI: <http://dx.doi.org/10.6018/analesbio.36.17>. https://www.um.es/analesdebiologia/numeros/36/PDF/36_2014_17.pdf
5. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes: European Communities (EC) – Strasbourg, 18.III.1986. *European Treaty Series No. 123*. <http://www.conventions.coe.int/treaty/en/treaties/html/123.htm>
6. MSDS Citriodiol. <https://media.lifeandhome.com/media/downloads/21984/msdspdf.pdf>
7. Technical Document for p-Menthane-3,8-diol also referred. https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/related_PC-011550_1-May-00.pdf
8. US EPA-Pesticides; p-Menthane-3,8-diol <https://archive.epa.gov/pesticides/chemicalsearch/chemical/foia/web/pdf/011550/011550-1999-02-26a.pdf>

REFERENCES

1. Biologichnyi kontrol shkidnykiv: osoblyvosti ta perevahy. *Ahrodovidnyk*. (2020). [Biological control of pests: features and advantages. Agricultural guide] *Enzim-agro*, <https://enzim-agro.com/agrodirectory/biologichnij-kontrol-shkidnikiv-osoblivosti-ta-perevagi>
2. Hihienichni rehlymenty dopustymoho vmistu khimichnykh i biologichnykh rehovyn u povitri robochoi zony (zatverdzeni nakazom MOZ vid 14.07.2020 r. №1596, zareiestrovany u Miniusti 03.08.2020 r. za №741/35024). [Hygienic regulations on the permissible content of chemical and biological substances in the air of the working area (approved by the order of the Ministry of Health dated 14.07.2020 No. 1596, registered in the Ministry of Justice on 03.08.2020 under No.741/35024)]. Retrieved from <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0741-20#Text>
3. Poriadok provedennia naukovy my ustanovamy doslidiv, eksperymentiv na tvarynakh: Nakaz Ministerstva osvity, nauky, molodi ta sportu Ukrainy vid 01.03.2012 № 249. [The procedure for research and experiments on animals by scientific institutions: Order of the Ministry of Education, Science, Youth and Sports of Ukraine dated March 1, 2012 No. 249.] *Ofitsiynyi visnyk Ukrainy*. 2012.24:82
4. Escartin, S., & Mariani, S. (2014). Evaluating the toxicity of oil of lemon eucalyptus, *Corymbia citriodora* (Hook.), against larvae of the Asian tiger mosquito and non-target fish and larval amphibians. *Anales de Biología*. 36: 97–105. ARTICLE DOI: <http://dx.doi.org/10.6018/analesbio.36.17>. https://www.um.es/analesdebiologia/numeros/36/PDF/36_2014_17.pdf
5. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes: European Communities (EC) – Strasbourg, 18.III.1986. *European Treaty Series No. 123*. Retrieved from <http://www.conventions.coe.int/treaty/en/treaties/html/123.htm>
6. MSDS Citriodiol. <https://media.lifeandhome.com/media/downloads/21984/msdspdf.pdf>
7. Technical Document for p-Menthane-3,8-diol also referred. https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/related_PC-011550_1-May-00.pdf
8. US EPA-Pesticides; p-Menthane-3,8-diol <https://archive.epa.gov/pesticides/chemicalsearch/chemical/foia/web/pdf/011550/011550-1999-02-26a.pdf>

TOXICOLOGICAL PROFILE OF CITRIODIOL® INSECTICIDE

Kuzminov B.P., Zazulyak T.S., Kuzminov O.B., Lukasevych N.F., Chemodurova N.Ye.

Abstract. In the last decade, insecticides obtained from plants have been actively used to fight mosquitoes. Before their use, it is necessary to evaluate their toxicity on laboratory animals. The purpose of the work was to experimentally establish the toxicity parameters of Citriodiol®, to determine the nature of the biological effect on the body of warm-blooded animals and to substantiate the maximum permissible concentration in the air of the working area. Citriodiol® insecticide was studied in acute, subacute and chronic experiments. The work was carried out on laboratory animals (male white rats, male white mice, ants and rabbits). It has been established that Citriodiol® insecticide is classified as a low-hazard substance (hazard class 4) based on the parameters of acute toxicity upon single oral administration. The average lethal dose for white rats is 5940 mg/kg. The clinical picture of acute poisoning is characterized by symptoms of damage to the central nervous system and irritant effects. Clinical signs of the toxic effect are most pronounced in animals that received the substance in doses of 7000 mg/kg - 11000 mg/kg. The death of animals was recorded against the background of adynamia, areflexia on the first day of the experiment. A single inhalation exposure to Citriodiol® does not cause the death of white mice and white rats. In the clinical picture of acute inhalation toxicity, symptoms of upper respiratory tract irritation and hypodynamia are observed. Citriodiol® has a mild irritant effect when it comes into contact with the skin and a strong irritant effect when it comes into contact with mucous membranes. Subchronic oral administration of Citriodiol®c causes the development of a clinical picture of intoxication, which develops on the 20-21st day of the experiment and is manifested by a decrease in motor activity. The cumulation ratio exceeds 8.0 and indicates weak cumulative activity. Chronic inhalation exposure does not cause the death of animals. A decrease in body weight, a change in hematological and biochemical parameters of the body of laboratory animals is observed.

Citriodiol® does not cause sensitization when applied to the skin and does not show mutagenic properties.

Conclusions. The parameters of toxicity, the nature of the biological effect on the organism of laboratory animals were established, and the maximum permissible concentration of the insecticide Citriodiol® in the air of the working area was substantiated.

Key words: insecticide, Citriodiol®, toxicity parameters, maximum permissible concentration, air of the working area

Кузьмінов Борис Павлович <https://orcid.org/0000-0002-8693-1046>

Зазуляк Тетяна Степанівна <https://orcid.org/0000-0001-5896-0475>

Кузьмінов Олександр Борисович <https://orcid.org/0000-0002-0786-8676>

Лукаsevич Надія Федорівна <https://orcid.org/0000-0002-0610-125>

Чемодурова Наталія Євгенівна <https://orcid.org/0000-0002-3501-9567>

Надійшла до редакції / Receiv: 29.06.2024