

# ABSCHLUSSBERICHT

# DE ALLERGO

Akute orale Toxizität an Wanderratten und Mäusen

Eine von 3 Kopien

Identifikationsnummer: 152/33/99-L

Beginn der Studie: 20. 08. 1999

Ende der Studie: 15. 10. 1999

## Inhalt

---

<b>Erklärung</b>	3
<b>Zusammenfassung</b>	4
<b>1. EINFÜHRUNG</b>	5
1.1 Studienziel	5
1.2 Projektteilnehmer	5
1.3 Fachpersonal	5
1.4 Qualitätssicherung	6
1.5 Richtlinien	6
<b>2. TESTBEDINGUNGEN</b>	6
2.1 Zeitplan	6
2.2 Beschreibung der getesteten Substanz	7
2.3 Beschreibung des Vehiculums	7
2.4 Vorbereitung der Applikationsform	7
2.5 Testsystem	8
2.6 Bedingungen der Tierhaltung	8
2.7 Dosierung	9
<b>3. METHODEN</b>	9
3.1 Applikation	9
3.2 Klinische Beobachtungen	9
3.3 Beobachtungen des Körpergewichtes	10
3.4 Sezierungen	10
3.5 Datenerfassung	10
3.6 Statistische Auswertung	10
<b>4. ERGEBNISSE UND DISKUSSION</b>	10
4.1 Klinische Beobachtungen und Mortalität	10
4.2 Beobachtungen des Körpergewichtes	11
4.3 Pathologische und histopathologische Untersuchung	11
<b>5. SCHLUSSFOLGERUNG</b>	12
<b>6. ARCHIVIERUNG</b>	12
<b>7. VERTEILER</b>	12
<b>Anlagen:</b>	
Tabelle 1: Körpergewicht der Tiere	1
Erklärung der QAU-Einheit	1
GLP-Zertifikat	1

## ERKLÄRUNG

Das getestete Präparat: DeAllergo

Studienart: Akute orale Toxizität an Wanderratten und Mäusen

Beginn der Studie: 20.08.1999

Hiermit erklärt die Unterzeichnende, daß alle in diesem Bericht genannten Arbeiten unter ihrer Aufsicht als Studienleiter nach gültigen Richtlinien und im Einklang mit einem genehmigten Arbeitsplan durchgeführt wurden. Der Bericht bringt richtige und genaue Angaben über die gewonnenen Ergebnisse.

15.10. 1999

Dr. rer. nat. Ivana Šurová  
Studienleiter



## ZUSAMMENFASSUNG

Das Ziel dieser Studie bestand darin, an Mäusen und Wanderratten die akute Toxizität der getesteten Substanz nach einer einzigen Applikation 14 Tage lang zu beobachten und auszuwerten.

Die getestete Substanz (DeAllergo) wurde den Wanderratten (5 Männchen und 5 Weibchen des Stammes Wistar:Han) und Mäusen (5 Männchen und 5 Weibchen des Stammes NMRI) oral in einer Dosierung von 2000 mg/kg in Form einer 20%-igen Emulsion in 0,5% Methylzellulose verabreicht.

Weder unmittelbar nach der Applikation der getesteten Substanz, noch im Laufe der ganzen Beobachtungszeit wurden bei Mäusen und Wanderratten Merkmale einer klinischen Intoxikation festgestellt. Es wurde auch kein Einfluß auf die Entwicklung des Körpergewichts der Tiere beobachtet. Die pathologische Untersuchung am Ende des Beobachtungszeitraums hat keinen Nachweis für Änderungen an den Organen der Brust- und Bauchhöhle gebracht.

Die getestete Substanz hat sich bei Mäusen und Wanderratten in der verabreichten Dosierung als nicht toxisch erwiesen.

## 1. EINFÜHRUNG

---

Testanlage: VÚFB, a.s., Výzkumná 421, Pardubice, 533 21, Tschechische Republik

### 1.1 Studienziel

Das Ziel dieser Studie bestand darin, an Mäusen und Wanderratten die akute Toxizität der getesteten Substanz nach einer einzigen Applikation 14 Tage lang zu beobachten und auszuwerten.

### 1.2 Projektteilnehmer

Leiter der Testanlage:	Dr. J. Marhan *
Projektmanager:	Dr. J. Sýkora *
GLP - Inspektor:	Dr. D. Gandalovičová *
Studienleiter:	Dr. I. Šurová *
Auftraggeber:	Karl-Heinz Förster KALDES BIOPHARM GmbH Schillerstrasse 10 95703 Plößberg

### 1.3 Fachpersonal

Leiter der Toxikologieabteilung:	Dr. A. Brejcha *
Studienleiter:	Dr. I. Šurová *
Veterinäraufsicht:	Dr. P. Široký *
Pathologie:	Dr. M. Hajašová * Dr. A. Brejcha *

\* VÚFB, a.s., Výzkumná 421, Pardubice

## 1.4 Qualitätssicherung

Diese Studie wurde nach gültigen Standards des VÚFB, a.s., Pardubice unter periodischer GLP-Aufsicht und im Einklang mit folgenden OECD-Richtlinien durchgeführt:

OECD Principles of Good Laboratory Practice /C(97)186/Final/  
Commission Directive 90/18/EEC adapting to the technical progress the Annex to Council Directive 88/302/EEC.

## 1.5 Richtlinien

Alle Schritte und Arbeitsmethoden wurden im Einklang mit folgenden Vorschriften und Richtlinien durchgeführt:

OECD Guideline for Testing of Chemicals, 1997, No. 401  
European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used Experimental and Other Scientific Purposes (86/609/EEC)  
Standardvorgänge: R-SN-LS-01-97, R-SN-APL-97, R-STU-01-96.  
Der Plan der Studie wurde von einer Sonderkommission im Einklang mit dem Gesetz Nr. 246/1992 Slg. und der Richtlinie des tschechischen Landwirtschaftsministeriums Nr. 311/1997 Slg. gebilligt.

## 2. TESTBEDINGUNGEN

### 2.1 Zeitplan

Beginn der Studie:	20.08.1999
Anlieferung der Tiere	24.08.1999
Aklimatisierung	2 Wochen
Beginn der experimentellen Versuche:	31.08.1999
Beginn der Applikation:	31.08.1999
	Wanderratten: 8:00 - 8:20
	Mäuse: 8:20 - 8:40
Hungerzeit:	18 - 20 Stunden vor der Applikation

Wiegen der Tiere:	vor der Applikation: am 31.08.1999 im Laufe des Beobachtungszeitraums: am 07.09.1999 am Ende des Beobachtungszeitraums: am 14.09.1999
Klinische Beobachtungen:	am Tag der Applikation (Tag 0), unmittelbar nach der Applikation und danach in einer, zwei und 3-5 Stunden nach der Applikation, später einmal am Tag.
Euthanasie und Sezierung:	14.09.1999
Ende der experimentellen Versuche:	22.09.1999
Ende der Studie	15.10.1999

## 2.2 Beschreibung der getesteten Substanz

Substanz:	DeAllergo
Identifikation:	Kombi –Präparat: Nigella Sativa, OenanthesCrocatae, Irigonella Foenum graccum
Beschreibung:	ölige Flüssigkeit
Charge:	-
Reinheit:	96,5 %
Stabilität:	12 Monate
Lösbarkeit:	Wasserauflösbarkeit 100%
Aufbewahrung:	bei Zimmertemperatur
Stabilität der getesteten Medikamentform:	12 Monate
Sicherheitsmaßnahmen:	keine besonderen Maßnahmen erforderlich
Vorbereitung der getesteten Medikamentform:	unmittelbar vor der Anwendug
Handhabung nach Studienende:	der Rest der Substanz wird dem Auftraggeber zurückgegeben

## 2.3 Beschreibung des Vehiculums

Titel:	0,5% Methylzellulose
Charge:	T71287/011098 VÚFB, a.s., Pardubice

## 2.4 Vorbereitung der Applikationsform

Unmittelbar vor der Applikation wurde eine 20%-ige Emulsion der Substanz in 0,5% Methylzellulose zubereitet und während der Applikation in einem elektromagnetischen Mischgerät gemischt.

## 2.5 Testsystem

Die Wanderratten und Mäuse wurden unter Berücksichtigung der OECD-Richtlinien getestet.

Testsystem:	Wanderratten Wistar:Han, Mäuse NMRI	
Begründung der Auswahl:	Wanderratten und Mäuse sind den OECD- und EU- Richtlinien zufolge bevorzugte Nagetiere für diesen Testtyp.	
Qualität:	konventionell	
Quelle:	VÚFB, a.s., Konárovice	
Anzahl der Tiere in der Gruppe:	Wanderratten	5 Männchen, 5 Weibchen
	Mäuse	5 Männchen, 5 Weibchen
Gesamtanzahl der Gruppen:	Wanderratten	1 Gruppe
	Mäuse	1 Gruppe
Gesamtanzahl der Tiere:	Wanderratten	5 Männchen, 5 Weibchen
	Mäuse	5 Männchen, 5 Weibchen
Alter der Tiere bei Lieferung:	Wanderratten	6 Wochen
	Mäuse	6 Wochen
Alter der Tiere bei Beginn der Studie:	Wanderratten	8 Wochen
	Mäuse	8 Wochen
Körpergewicht bei Beginn der Applikation	Wanderratten	Männchen 164-180 g Weibchen 120-133 g
	Mäuse	Männchen 22,5-25 g Weibchen 19,5-20,5 g
Identifikation	individuelle Markierung der Behälter, individuelle Markierung der Tiere mit Pikrinsäurelösung	

## 2.6 Bedingungen der Tierhaltung

Hygienische Bedingungen:	konventionell
Unterbringungsbehälter:	Velaz T2



Anzahl der Tiere in den Behältern:	Wanderratten: 2 oder 3 Tiere von gleichem Geschlecht in einem Behälter Mäuse: 2 oder 3 Weibchen in einem Behälter, individuelle Unterbringung der Männchen
Raumnummer:	Ro 7/5,6
Unterbringung:	auf der Einstreu JELUXYL SAWI (JELU-Werk, BRD)
Futter:	Standardfutter NOE (Racio Břeclav), <i>ad libitum</i>
Zimmertemperatur:	22 +/- 3° C, kontinuierlich kontrolliert
Relative Luftfeuchtigkeit	30-70%, kontinuierlich kontrolliert
Lichtbedingungen:	12 St / 12 St, automatisch gesteuert

## 2.7 Dosierung

Wanderratten	Dosierung (mg/kg)	Männchen	Weibchen
	2000	1-5	6-10
Mäuse	Dosierung (mg/kg)	Männchen	Weibchen
	2000	11-15	16-20

## 3. METHODEN

### 3.1 Applikation

Applikationsmethode	oral, durch Metallsonde
Begründung der Auswahl:	Die Art der Verabreichung entsprach der vorausgesetzten Einnahme beim Menschen
Applikationsumfang	1 ml/100 g des Körpergewichts

Die Applikation wurde durchgeführt, nachdem die Versuchstiere 18-20 Stunden gehungert hatten.

### 3.2 Klinische Beobachtungen

Während der Akklimatisierung wurde der Zustand der Tiere einmal pro Tag beobachtet. In die Beobachtung wurde der Haut-, Fell- und Augenzustand, das Atem-, Kreislauf- und Nervensystem, somatomotorische Aktivitäten und das gesamte Verhalten einbezogen.

Beobachtung der klinischen Merkmale wurden unmittelbar nach der Applikation, nach einer, zwei und 3 bis 5 Stunden, und dann bis zum Ende des Beobachtungszeitraums einmal pro Tag durchgeführt.

Die klinischen Beobachtungen richteten sich auf den Haut-, Fell- und Augenzustand, das Atem-, Kreislauf und Nervensystem, somatomotorische Aktivitäten und das gesamte Verhalten der Tiere.

### 3.3 Beobachtungen des Körpergewichtes

Das Wiegen der Tiere wurde vor der Applikation und dann am 7. und 14. Tag danach durchgeführt. Die Ergebnisse wurden mit Hilfe des Programms MS EXCELL bearbeitet.

### 3.4 Sezierungen

Am Ende der Beobachtungsperiode wurden alle überlebenden Tiere durch Nackenbruch unter Äthernarkose getötet. Es wurden eine makroskopische Untersuchung der Organe in der Brust- und Bauchhöhle vorgenommen.

### 3.5 Datenerfassung

Alle gewonnenen Daten wurden protokolliert, in Tabellen eingetragen und EDV-mäßig bearbeitet.

### 3.6 Statistische Auswertung

Die Ergebnisse der Beobachtungen des Körpergewichtes wurden mit Hilfe deskriptiver Statistik ausgewertet. (Mit dem Programm MS EXCEL wurden der arithmetische Mittelwert und die relevanten Abweichungen ermittelt.) Statistische Tests wurden nicht benutzt.

## 4. ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Im Laufe des Akklimatisierungszeitraums wurden keine Abweichungen von der erforderlichen Temperatur (19-25 °C) und der relativen Luftfeuchtigkeit festgestellt.

Während der 14-tägigen Beobachtungsperiode hat sich die Stalltemperatur im Bereich des vorgeschriebenen Intervalls bewegt. Eine leichte Abweichung der relativen Luftfeuchtigkeit kurzfristigen Charakters wurde am 9.9.1999 festgestellt. An diesem Tag gab es eine geringe Erhöhung der ermittelten Werte im Intervall von 2-6% oberhalb der erforderlichen Grenze.

Weil diese Abweichung jedoch nur kurz dauerte (max. 2 Stunden), kann keine Rede von einer Beeinflussung des Gesundheitszustandes der Tiere gesprochen werden.

#### 4.1 Klinische Beobachtungen und Mortalität

##### *Wanderratten*

Unmittelbar nach der Applikation wurden an den Tieren keine klinischen Merkmale der Intoxikation beobachtet. Auch innerhalb von 3-5 stündigen Intervallen nach Verabreichung der Substanz wurden bei den Männchen und Weibchen keine Veränderungen des Verhaltens und des Gesundheitszustandes beobachtet. Nach dem Füttern (3 Stunden nach der Applikation) zeigten die Tiere normales Interesse an Nahrung. Im Laufe der weiteren Beobachtungsperiode zeigten sich ebenfalls keine klinischen Symptome einer Intoxikation. Keines der Tiere ist eingegangen.

##### *Mäuse*

Fünf Stunden nach der Applikation konnten weder bei den Männchen, noch bei den Weibchen klinische Symptome einer Intoxikation beobachtet werden. Nach dem Füttern (die Tiere wurden 3 Stunden nach der Applikation gefüttert) zeigten sie normales Interesse an Nahrung. Im Laufe der weiteren Beobachtungsperiode (14 Tage lang nach der Applikation) konnten bei den Tieren keine Veränderungen des Gesundheitszustandes und des Verhaltens festgestellt werden. Keines der Tiere ist eingegangen.

#### 4.2 Beobachtungen des Körpergewichtes

##### *Wanderratten*

Bei allen beobachteten Tieren wurde in den 2 Wochen nach der Applikation der Substanz eine Gewichtszunahme verzeichnet, die dem Alter der Wanderratten entsprach, und es gab dabei keine bedeutenden interindividuellen Unterschiede.

Es kann festgestellt werden, daß die Entwicklung des Körpergewichtes durch die verabreichte Menge der getesteten Substanz nicht negativ beeinflußt.

##### *Mäuse*

Im Laufe der gesamten Beobachtungsperiode wurde bei Männchen und Weibchen normale Gewichtszunahme beobachtet, bei allen Tieren ungefähr auf dem gleichen Niveau. Bei keinem der Tiere wurde eine Gewichtsabnahme oder eine Stagnation des Körpergewichtes festgestellt. Die Entwicklung des Körpergewichtes wurde durch die verabreichte Menge der getesteten Substanz nicht negativ beeinflußt.

#### 4.3 Pathologische und histopathologische Untersuchung

##### *Wanderratten*

Die makroskopische und pathologische Untersuchung aller Tiere zeigte keine Veränderungen der Organe in der Brust- und Bauchhöhle. Eine histopathologische Untersuchung war nicht indiziert.

##### *Mäuse*

An den Organen der Brust- und Bauchhöhle wurden bei der makroskopischen Untersuchung keine Veränderungen festgestellt. Eine histopathologische Untersuchung war nicht indiziert.

## 5. SCHLUSSFOLGERUNG

Bei der klinischen Untersuchung von Mäusen und Wanderratten, an denen die Substanz DeAllergo in einer Dosis 2000 mg/kg getestet wurde, konnten weder unmittelbar nach der Applikation, noch während der gesamten 14-tägigen Beobachtungsperiode irgendwelche Symptome einer Intoxikation festgestellt werden.

Die Entwicklung des Körpergewichts wurde weder bei den Mäusen noch bei den Wanderratten negativ beeinflusst.

Die pathologische Untersuchung am Ende der Beobachtungsperiode brachte keinen Beweis einer Veränderung der Organe in der Brust- und Bauchhöhle.

Die getestete Substanz zeigte sich in der angewandten Dosis bei den Mäusen und Wanderratten als nicht toxisch.

## 6. ARCHIVIERUNG

---

Nach der Komplettierung des Ablußberichts wird der Studienplan, die Rohdaten, die Ergebnisse und die gesamte Dokumentation, die die getestete Substanz, das Testsystem und die Bedingungen des Experiments betrifft, inklusive eine Kopie des Ablußberichts, im Zentralarchiv des VÚFB Teil A und B, die Referenzprobe der Substanz im Teil C, aufbewahrt.

## 7. VERTEILER

---

Auftraggeber	2 Exemplare in deutscher Sprache
Leiter des Testanlage	1 Exemplar in tschechischer Sprache
Zentralarchiv des VÚFB, a.s. Pardubice	1 Exemplar in tschechischer Sprache und 1 Exemplar in deutscher Sprache
Leiter der Studie	1 Exemplar in tschechischer Sprache

# Anlagen

Tabelle 1: Körpergewicht der Tiere

Erklärung der QAU-Einheit

GLP-Zertifikat

**BODY WEIGHTS (g)**

**Animal:** Rat  
**Administration:** Oral

Tab.: 1  
Dose: 2000 mg/kg  
Males

Date:	31.08.99	07.09.99	14.09.99
Anim. No.			
M1	166	221	250
M2	178	237	276
M3	180	238	273
M4	164	214	271
M5	165	217	250
MEAN	170.600	225.400	264.000
SD	6.917	10.131	11.541

Tab.: 2  
Dose: 2000 mg/kg  
Females

Date:	31.08.99	07.09.99	14.09.99
Anim. No.			
F6	133	164	182
F7	123	165	181
F8	123	159	176
F9	120	151	176
F10	132	163	186
MEAN	126.200	160.400	180.200
SD	5.269	5.122	3.816

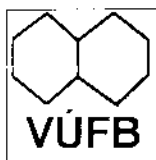
**Animal:** Mouse  
**Administration:** Oral

Tab.: 3  
Dose: 2000 mg/kg  
Males

Date:	31.08.99	07.09.99	14.09.99
Anim. No.			
M11	24.0	29.5	32.5
M12	24.0	33.0	35.0
M13	24.0	33.5	34.5
M14	22.5	32.0	33.0
M15	25.0	32.5	34.0
MEAN	23.900	32.100	33.800
SD	0.800	1.393	0.927

Tab.: 4  
Dose: 2000 mg/kg  
Females

Date:	31.08.99	07.09.99	14.09.99
Anim. No.			
F16	20.0	25.5	27.0
F17	19.5	22.5	25.0
F18	20.0	25.5	25.5
F19	19.5	25.0	26.5
F20	20.5	24.5	26.0
MEAN	19.900	24.600	26.000
SD	0.374	1.114	0.707



**VÚFB, a.s.**

Výzkumná 421

533 51 Pardubice

Czech Republic

---

## STATEMENT OF QUALITY ASSURANCE UNIT

**Study : Acute Oral Toxicity in Mice and Rats**

Identification No. : 152/33/99-L

Study director : Dr. I. Šurová

Date of the final report : 15.10.1999

Quality of testing was inspected by D. Gandalovičová, M.Sc.,Ph.D.

Type of inspections	Dates ( day/month/year )	
	of inspections	of reporting
In-process phase	2.09.1999	3.09.1999
Reporting phase	14.10.1999	14.10.1999

---

The present study was conducted in compliance with the following Good Laboratory Practice regulations :

- US Food and Drug Administration, Good Laboratory Practice Regulations 21 CFR Part 58, December 22, 1978
- OECD Principles of Good Laboratory Practice, C(97) 186 ( Final )

The Quality Assurance Unit of VÚFB certified that a quality control process was applied during the study and on the present report. This report constitutes a true and faithful record of the procedures undertaken and the results obtained in the performance of the study.

Date : 15.10.1999

Dana Gandalovičová, M.Sc.,Ph.D.

Quality Assurance Unit

# STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV

Šrobárova 48, 100 41 PRAHA 10

tel. (+420 2) 673 11 275, fax (+420 2) 7173 2377, e-mail: sukl@sukl.cz

## CERTIFIKÁT SPRÁVNÉ LABORATORNÍ PRAXE CERTIFICATE OF GOOD LABORATORY PRACTICE

Tímto je potvrzeno, že v testovacím zařízení

It is hereby certified that the test facility

VÚFB a.s., pobočka Pardubice  
Výzkumná ul. 421  
533 51 Pardubice

IČO: 60193115

dne 10.-12. 11. 1998

byla provedena inspekce Státního ústavu pro kontrolu léčiv kontrola podmínek dodržování Zásad správné laboratorní praxe podle OECD [C(97)186/Final].

Tímto je potvrzeno, že laboratorní studie na tomto pracovišti jsou prováděny podle Zásad správné laboratorní praxe.

on 10.-12.11. 1998

was (were) inspected by inspectors of State Institute for Drug Control regarding compliance with the OECD Principles of Good Laboratory Practice [C(97)186/Final].

It is hereby certified that studies in this test facility are conducted in compliance with the Good Laboratory Practice.

Poř. č. C/SLP/54

Rozsah činnosti:

Scope of activities:

Krátkodobé, dlouhodobé a genetické toxikologické studie; Autoradiografické studie; Studie biodistribuce u zvířat za použití radionuklidů

Short term, long term and genetic toxicological studies; Autoradiographic studies; Biodistribution studies using radionuclides

Certifikát vydán dne: 30.12.1998

Date of issue: 30.12. 1998

Doc. RNDr. Martin Valchář, CSc.  
Chief of the Inspection Division



MUDr. Milan Šmíd, CSc.  
Director of the Institute