

# ПРОТИВОМЕТАСТАТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АЛКАЛОИДОВ АКОНИТА БАЙКАЛЬСКОГО

Т.Н. Поветьева<sup>1</sup>, В.Г. Пашинский<sup>1</sup>, Ю.В. Нестерова<sup>1</sup>, С.В. Пушкарский<sup>1</sup>,  
Н.Н. Гайдамович<sup>2</sup>, А.А. Семенов<sup>3</sup>, Ц. Жапова<sup>3</sup>, Н.Н. Погодаева<sup>3</sup>

НИИ фармакологии Томского научного центра СО РАМН<sup>1</sup>, Томский военно-медицинский институт<sup>2</sup>,  
Иркутский институт химии СО РАН<sup>3</sup>

На мышах линии C57BL6 с карциномой легких Льюиса проведены экспериментальные исследования противометастатических и противоопухолевых свойств дитерпеновых алкалоидов напеллина, зонгорина, мезаконитина, гипаконитина, N-оксинапеллина (в дозе 0,05 мг/кг), выделенных из надземной части аконита байкальского (*Aconitum baicalense* Turcz. ex Rapaics, в сравнении с настойкой из травы этого же растения (в дозе 0,5 мл/кг). Наиболее выраженную противометастатическую активность проявили алкалоиды напеллин и зонгорин, а противоопухолевую – напеллин, которые сопоставимы по эффективности с настойкой травы аконита байкальского.

## ANTIMETASTATIC ACTIVITY OF ALKALOIDS OF ACONITUM BAICALENSE

T.N. Povetyeva<sup>1</sup>, V.G. Pashinsky<sup>1</sup>, Yu.V. Nesterova<sup>1</sup>, S.V. Pushkarsky<sup>1</sup>,  
N.N. Gaidamovich<sup>2</sup>, A.A. Semenov<sup>3</sup>, Ts. Zhapova<sup>3</sup>, N.N. Pogodaeva<sup>3</sup>

Pharmacology Research Institute, Tomsk Scientific Center, SB RAMS<sup>1</sup>

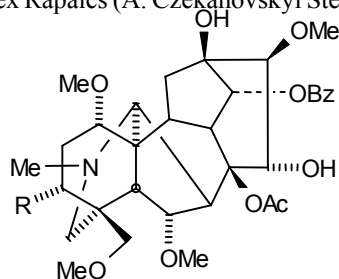
Military Medical Institute<sup>2</sup>, Tomsk

Chemistry Institute, SB RAS<sup>3</sup>, Irkutsk

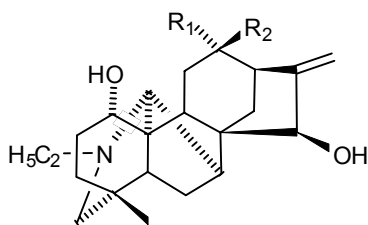
Experimental investigations of anti-metastatic and anti-tumor activities of alkaloids (napellin, zongorin, mesaconitin, hypaconitin and N-oxynapellin, at a dose of 0,05 mg/kg) excreted from over-ground part of *Aconitum baicalense* Turcz. ex Rapaics were performed on C57BL6-line mice with Lewis's lung carcinoma. The most pronounced anti-metastatic activity had such alkaloids as napellin and zongorin and anti-tumor activity had napellin, that were similar in efficiency with tincture from the grass of *Aconite baicalense*.

Растения рода *Aconitum* издавна привлекают химиков и фармакологов в связи с наличием в них дитерпеновых алкалоидов сложного и уникального химического строения [15, 18]. Ранее нами показано наличие высоких противометастатических свойств у спиртовых извлечений из надземной части (травы) аконита (борец) байкальского – *Aconitum baicalense* Turcz. ex Rapaics (A. Czekanovskiy Steinb.) [14] и надземной

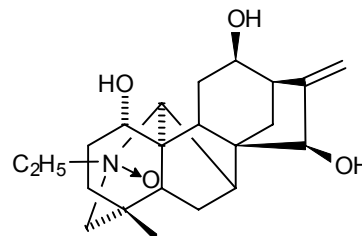
(травы) и подземной (корней) частей аконита северного – *Aconitum septentrionale* L. [13]. Получено экспериментальное подтверждение, что и сумма алкалоидов, выделенная из аконита байкальского, обладает широким спектром фармакологических свойств, в ряду которых выражена противоопухолевая и противометастатическая активность [12]. В связи с этим мы предприняли попытку дальнейшего исследования



R = OH - мезаконитин  
R = H - гипаконитин



R<sub>1</sub> = H; R<sub>2</sub> = OH 12-эпинапеллин  
R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = O зонгорин



N-оксид 12-эпинапеллина

Рис. 1. Алкалоиды надземной части *A. baicalense*

отдельных алкалоидов из надземной части *A. baicalense*. Растение продуцирует пять алкалоидов, химическая структура которых показана на рис. 1.

## Материалы и методы

Объектом исследования явились отдельно выделенные дитерпеновые алкалоиды: напеллин, зонгорин, мезаконитин, гипаконитин, N-оксинапеллин из надземной части (травы) аконита байкальского, полученные в лаборатории Иркутского ИХ СО РАМН. Сумма алкалоидов и отдельные её компоненты выделялись, как было описано ранее [7–9]. В качестве препарата сравнения использована настойка травы аконита байкальского (патент РФ № 2189832 на изобретение «Средство, обладающее противометастатической активностью» от 27.09.2002).

Эксперименты проведены на мышах линии С57BL6, разводки питомника НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН. Животные сертифицированы. Карциному легких Льюис индуцировали путем введения в мышцу бедра взвеси 1 млн опухолевых клеток в физиологическом растворе. Лечение животных начинали на 10-е сут, т.е. моделировали диссеминированный процесс. Исследуемые средства вводили ежедневно, алкалоиды в дозе 0,05 мг/кг, настойку травы аконита байкальского в дозе 0,5 мл/кг, в течение 10 дней. Контрольные животные получали растворитель. Животных выводили из опыта на 24-е сут, забивали, соблюдая правила работы с лабораторными животными [16]. Процент торможения роста опухоли (по массе опухолевого узла) вычисляли по формуле

$$\text{TPO \%} = \frac{\text{Средний показатель роста опухоли в контроле} - \text{средний показатель роста опухоли в опытной группе}}{\text{Средний показатель роста опухоли в контроле}} \times 100$$

Об интенсивности развития метастатического процесса судили по среднему количеству гематогенных субплевральных метастазов на одно животное в группе, частоте метастазирования опухоли (животные с метастазами из общего числа животных в группе), индексу торможения метастазирования, который рассчитывали по формуле

$$\text{ИИМ} = \frac{(\text{Ак} \times \text{Вк}) - (\text{А} \times \text{В})}{(\text{Ак} \times \text{Вк})} \times 100\%$$

где Ак – частота метастазирования в контрольной, А – в опытной группах; Вк – среднее число метастазов у животных контрольной, В – опытной групп [2]. Регистрировали случаи с высокой степенью поражения легких метастазами (более 30 шт.) [19].

Статистическую обработку полученных результатов проводили путем расчета средней ( $\bar{X}$ ) и среднеквадратичной ошибки (m). О достоверности различий судили, используя параметрический (критерий Стьюдента), в случае распределения близкого к нормальному, и непараметрический (критерий Вилкоксона – Манна – Уитни) методы. Для сравнения результатов экспериментов, где показатели выражались в долях, достоверность определяли с помощью метода углового преобразования Фишера [6]. Значимость различий считали достоверной при Pt, Pu < 0,05. Часть результатов обработаны на компьютере с использованием пакета прикладных программ Statistica 5,0.

## Результаты исследования

Адекватной моделью для поиска антиметастатических средств является карцинома легкого Льюис [17]. Использование этой модели позволило нам зафиксировать 100 % метастазирование у мышей контрольной группы (таблица). Курсовое введение алкалоидов и настойки травы аконита байкальского приводило к существенному снижению как роста опухоли, так и развития метастазов. Под действием настойки травы аконита байкальского в дозе 0,5 мл/кг у мышей в 1,7 раза уменьшалось среднее число метастазов, в сравнении с животными контрольной группы. Под влиянием алкалоидов в дозе 0,05 мг/кг противометастатическая активность проявилась следующим образом: напеллин снижал среднее число метастазов в 1,9 раза, зонгорин – в 1,8 раза. Для остальных алкалоидов выявлена только тенденция к снижению интенсивности этого процесса. Кроме того, установлено, что под действием настойки травы аконита байкальского и алкалоидов напеллина и зонгорина животные с высокой степенью поражения легких (ВСП) отсутствуют. Остальные алкалоиды проявили менее выраженную активность: мезаконитин в сравнении с животными контрольной группы снижал этот показатель в 1,2 раза, гипаконитин и N-оксинапеллин – в 2,3 раза. В связи с тем, что моделировался диссеминированный процесс с целью воссоздания стадии метастазирования, мы получили умеренное торможение роста первичной карциномы лег-

Влияние алкалоидов *Aconitum baicalense* на метастазирование карциномы легкого Льюис у мышей-самцов линии 57BL6 ( $\bar{X} \pm m$ )

Препарат	Масса опухоли, г	Торможение роста опухоли, %	Частота метастазирования, %	Среднее число метастазов, шт.	Торможение роста метастазов, %	ИИМ, %	ВСП, %
Контроль (n=10)	4,2±0,5	0	100	27,4±5,5	0	0	30
Настойка травы аконита байкальского (n=6)	3,3±0,4	21,4*	100	15,8±2,3*	42,3	42,3	0*
Напеллин (n=8)	3,2±0,8	23,8*	100	14,3±3,2*	47,8	47,8	0*
Зонгорин (n=7)	5,2±0,5	0	100	14,6±2,4*	46,7	46,7	0*
Мезаконитин (n=8)	4,2±0,6	0	100	21,5±3,9	21,5	21,5	25
Гипаконитин (n=8)	3,9±0,6	7,1	100	22,0±4,1	19,7	19,7	13
N-оксинапеллин (n=8)	4,5±0,6	0	100	19,4±2,5	29,2	29,2	13

Примечание: \* – различия статистически достоверны при  $p < 0,05$  в сравнении с контролем; ИИМ – индекс ингибирования метастазирования; ВСП – высокая степень поражения легких.

кого Льюис растительными средствами. Достоверное уменьшение массы первичного опухолевого узла в 1,3 раза, в сравнении с контролем, вызывали настойка травы аконита байкальского и алкалоид напеллин.

Умеренное торможение роста перевиваемых опухолей и существенное ингибирующее влияние на метастатический процесс алкалоидов аконита мы не связываем с их прямым цитотоксическим действием. Как известно, нейрогуморальные нарушения играют существенную роль в развитии состояния иммунодепрессии при злокачественном процессе [3]. Предполагается, что метастазирование рака легкого развивается на фоне значительного угнетения Т-системы иммунитета [4], тогда как препараты аконита джунгарского, в состав которого входит алкалоид зонгорин, оказывают стимулирующее влияние как на Т-, так и на В-систему иммунного ответа [11]. Поэтому существенный антиметастатический эффект алкалоидов и настойки аконита байкальского, возможно, связан с их иммуностимулирующим действием.

Считается, что опухолевая ткань избирательно накапливает ионы натрия и калия, причем в большей степени именно натрия. Так, содержание ионов натрия в опухолевой клетке в 2–4 раза превосходит такое в здоровых тканях [10]. Под действием алкалоидов аконита наступает стойкая блокада натриевой помпы мембран клеток опухоли. Липидные образования, входящие в состав рецепторного поля канала, имеющие извращенный в результате бласттрансформации молекулярный состав, характеризуются более высо-

ким сродством к молекулам аконитинов, чем в нормальных тканях. При этом происходит полное и необратимое подавление натриевого тока внутрь клетки, вследствие чего возникают выраженные нарушения электролитного гомеостаза как раковой клетки в отдельности, так и опухолевого узла в целом и тем самым обеспечивается противоопухолевый эффект. Таким образом, алкалоиды аконита, с одной стороны, нарушая электролитный гомеостаз опухолевой клетки, снижают ее защитные реакции, а с другой, являясь иммуномодуляторами, способствуют возрастанию усиления ответа против чужеродной ткани [1].

Нельзя не отметить еще один аспект противометастатического действия алкалоидов. Согласно теории канцерогенеза, предложенной японским профессором Какудзо Ниши [5], основная роль в возникновении и прогрессировании рака принадлежит нарушениям процессов тканевого дыхания и увеличению концентрации СО. Исследования по изучению эффектов различных алкалоидов борца показывают, что алкалоиды аконитовой и гетеротизиновой групп обладают свойством усиливать кровоток в капиллярном русле. Такой эффект приводит к улучшению снабжения тканей кислородом, что, в свою очередь, стимулирует аэробный тип тканевого дыхания и тем самым снижает образование и накопление СО в процессе метаболизма.

Таким образом, в эксперименте на животных выявлен противометастатический эффект напеллина и зонгорина, сопоставимый с аналогичным действием настойки аконита байкальского. Это дает основа-

ние предполагать, что, вероятно, эти алкалоиды вносят свой вклад в противометастатическое действие как комплексного растительного средства – настойки аконита, так и суммы алкалоидов, выделенных из надземной части аконита байкальского. Умеренное торможение первичного опухолевого узла выявлено у алкалоида напеллина, подобного по своему действию настойке аконита.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Алефиров А.Н.* Борец за жизнь. СПб.: ИД “Весь”, 2002. 192 с.
2. *Архипов С.А., Юнкер В.М.* Изменение интенсивности метастазирования в легкие перевиваемых опухолей мышей в зависимости от величины перевивочной дозы опухолевых клеток // Исследование по индукции и метастазированию опухолей у экспериментальных животных. Новосибирск, 1984. С. 14–32.
3. *Балицкий К.П., Векслер И.Г., Винницкий В.Б. и др.* Нервная система и противоопухолевая защита. Киев: Наукова Думка, 1983. 258 с.
4. *Вагнер В.П., Чирвино Е.Д., Тютюнова А.М. и др.* Иммуногормональные показатели в прогнозировании метастазирования рака легкого // Метастазирование злокачественных опухолей: новые подходы. Киев, 1987. С. 19.
5. *Волосенко М.И.* Традиционные методы предупреждения и лечения рака. М.: Аквариум, 1994. 230 с.
6. *Гублер Е.В.* Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. М.: Медицина, 1978. 293 с.
7. *Жапова Ц., Модонова Л.Д., Семенов А.А.* Алкалоидность *Aconitum czekanovskyi* // Химия природн. соедин. 1986. № 3. С. 382.
8. *Жапова Ц., Модонова Л.Д., Семенов А.А.* Мезаконитин и гипаконитин из *Aconitum czekanovskyi* Steinb. // Химия природн. соедин. 1985. № 5. С. 717–718.
9. *Жапова Ц., Семенов А.А.* 12-эпинапеллин и его N-окись из *Aconitum baicalense* // Химия природн. соедин. 1999. № 6. С. 888–892.
10. *Пашинский В.Г.* Водно-солевой обмен и рак. Томск: Изд-во Том. ун-та, 1981. 256 с.
11. *Пигаревский П.В., Мохнач И.В.* Иммуноморфологические изменения в лимфоидной ткани мышей под влиянием аконита джунгарского, левомизола, нуклеината натрия // Докл. АН СССР. 1983. Т. 268, № 3. С. 754–755.
12. *Поветьева Т.Н.* Механизмы адаптогенного действия лекарственных растений Сибири: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Томск, 2002. 41 с.
13. *Поветьева Т.Н., Гайдамович Н.Н., Пашинский В.Г. и др.* Противометастатические свойства вытяжек аконита северного (*Aconitum septentrionale* L.) // Сибирский онкологический журнал. 2004. № 1. С. 9–11.
14. *Поветьева Т.Н., Пашинский В.Г., Семенов А.А. и др.* Исследование противоопухолевых и антиметастатических свойств растительных средств из аконита байкальского // Сибирский онкологический журн. 2002. № 4. С. 138–141.
15. *Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав Magnoliaceae.* Л.: Наука, 1984. 460 с.
16. *Софьина З.П., Сыркин А.Б., Голдин А., Кляйн А.* Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США. М.: Медицина, 1979. 296 с.
17. *Hellman K.* Antimetastatic drugs: from laboratory to clinic // Clin. and Exp. metastas. 1984. Vol. 2. P. 1–4.
18. *Pelletier S.W., Mody N.V.* Developments in the chemistry of Diterpenoid alkaloids // J. Nat. Prod. 1980. Vol. 43, № 1. P. 41–71.
19. *Sergent N.S.F., Price I.E., Tarin D.* Effect of enzymic removal of cell surface constituents on metastatic colonisation potential of mouse mammary tumor cells // The British J. of Cancer. 1983. Vol. 48, № 4. P. 569–577.

Поступила 12.10.05