

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ И АНТИМЕТАСТАТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ РАСТИТЕЛЬНЫХ СРЕДСТВ ИЗ АКОНИТА БАЙКАЛЬСКОГО

Т.Н. Поветьева, В.Г. Пашинский, А.А. Семенов, Ц. Жапова,
Н.Н. Погодаева, Т.Г. Хоружая

*НИИ фармакологии Томского научного центра СО РАМН,
Иркутский институт химии СО РАН,
Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск*

Алкалоидоносные растения считаются одними из перспективных для использования в медицинской практике. Многие алкалоиды высоко специфичны и имеют сложное строение молекул, что затрудняет их синтез. Представители рода *Aconitum* семейства *Ranunculaceae* широко известны как продуценты дитерпеновых алкалоидов. Представитель этого рода аконит байкальский (*Aconitum baicalense* Turcz. ex Rapaics (A. Czekanovskiy Steinb.) эндемичен для Восточной Сибири. Изучение химического состава этого вида показало наличие дитерпеновых алкалоидов. В составе растений обнаружен новый алкалоид N-окись 12-эпинапеллин, идентифицированы известные третичные основания гипаконитин, мезаконитин, зонгорин, напеллин [5, 6, 7]. Установлено, что растение синтезирует комплекс флавоноидных гликозидов и других полифенольных соединений, структуру которых установили как 7- α - λ рамнопиранозиды кемпферола и кверцетина, ацилглюкозид п-кумаровой кислоты, 2 α -(3-метокси-4-гидроксифенил)-3 β -гидроксиметил-7-метокси-5-(3-гидроксипропил) бензо[b]фуран и 2-(3-метокси-4-гидроксифенил)-этанол. Установлена химическая структура нового ацилированного олигозида кверцетина, названного чеканозидом А [8]. Ранее нами было показано, что препараты из аконита байкальского обладают адаптогенными свойствами, повышают устойчивость организма к различным повреждающим факторам [10].

Целью данного исследования явилось экспериментальное изучение противоопухолевых и антиметастатических свойств растительных средств, полученных на основе аконита байкальского.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования служили водно-этанольные вытяжки из надземной части аконита байкальского, которые представляют комплекс действующих и сопутствующих веществ, извлекаемых из измельченной травы 25-40% раствором этилового спирта при соотношении сырья и экстрагента 1:50 (2% – настойка₂), 1:20 (10% – настойка₁₀), 1:1 (экстракты жидкий и сухой), а также вытяжка суммы алкалоидов и суммы фенольных соединений — бутанольная фракция. Сырье было собрано в окрестностях г. Иркутска. В качестве препаратов сравнения использовали синтетический антиметаболит — 5-фторурацил и растительный препарат из чаги — бефунгин.

Эксперименты проведены на мышях линий C57BL/6, FL(C57BL/6xСВА) и рандомбредных мышях разводки питомника НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН. В качестве моделей опухолевого роста использованы саркома Крокера, асцитная карцинома Эрлиха, меланома В-16, карцинома легких Льюис. Перевивку опухолей проводили стандартными методами. Об эффективности лечения судили по темпу роста опухоли и продолжительности жизни животных. Процент торможения роста опухоли (по массе и объему опухолевого узла или объему опухолевых клеток в асцитном варианте) вычисляли по формуле:

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

Увеличение продолжительности жизни животных (%) рассчитывали по формуле:

$$\frac{\text{Средняя продолжительность жизни в опытной группе} - \text{средняя продолжительность жизни в контроле}}{\text{Средняя продолжительность жизни в контроле}} \times 100.$$

Об интенсивности развития метастатического процесса судили по среднему количеству гематогенных субплевральных метастазов на одно животное в группе, частоте метастазирования опухолей (процент животных с метастазами), средней массе лимфогенных метастазов. Индекс ингибции метастазирования (ИИМ) рассчитывали по формуле:

$$\text{ИИМ} = \frac{(A_k \times B_k) - (A \times B)}{(A_k \times B_k)} \times 100\%,$$

где A_k , A - частота метастазирования в контрольной и опытной группах; B_k , B - среднее число метастазов у животных контрольной и опытной групп соответственно [1].

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 либо непараметрический критерий Вилкоксона - Манна-Уитни для выборок, распределение которых отличалось от нормального. Для сравнения результатов экспе-

риментов, где показатели выражались в долях, достоверность различий оценивали по критерию углового преобразования Фишера [4]. Различия считали достоверными при $P_t, P_u < 0,05$. Часть результатов обработана на компьютере с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 5,0 FOR WINDOWS.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Мы показали, что настойка₂ аконита в дозе 10,0 мл/кг на 50 % тормозила рост саркомы Крокера, а в дозе 2,5 мл/кг на 56,7 % снижала темп роста асцитной карциномы Эрлиха, устраняя при этом лейкоцитоз и увеличивая содержание гемоглобина в крови животных. Другие растительные средства из аконита также вызывали умеренное торможение опухолевого процесса. Так, бутанольная фракция (1,1 мг/кг) и сумма алкалоидов (0,05 мг/кг) увеличивали продолжительность жизни мышей с карциномой легких Льюис на 66,5 и 65,4 %. Настойка₁₀ и сухой экстракт (16,2 мг/кг) на 43 и 39 % увеличивали продолжительность жизни животных с этой опухолью. Жидкий экстракт (0,2 мл/кг) достоверного действия не оказывал (табл. 1).

Для сравнительного исследования противо-метастатической активности были использованы следующие лекарственные формы аконита байкальского: настойка₂, настойка₁₀, экстракты жидкий и сухой, сумма алкалоидов. Назначали также 5-фторурацил (15,0 мг/кг) – антимаболит из группы фторпиримидинов, обладающий широким спектром противоопухолевой активности и

Т а б л и ц а 1

Влияние препаратов аконита (*Aconitum baicalense*) на продолжительность жизни мышей линии C57BL/6 с карциномой легких Льюис ($\bar{X} \pm m$)

Препарат	Число животных	Средняя продолжительность жизни, дни	УПЖ, %	Количество выживших животных, %
Контроль (спирт)	9	48,8 ± 6,1	-	10,0
Настойка ₁₀	8	70,0 ± 6,7*	43,3	37,5
Контроль (вода)	10	48,9 ± 5,5	-	11,1
Жидкий экстракт	8	65,0 ± 7,0	32,9	37,5
Сухой экстракт	8	67,9 ± 6,7*	38,9	50,0
Бутанольная фракция	8	81,4 ± 3,6*	66,5	62,5*
Алкалоидная фракция	8	80,9 ± 5,7*	65,4	75,0*

П р и м е ч а н и е. * - различия статистически достоверны в сравнении с контролем ($p < 0,05$); УПЖ – увеличение продолжительности жизни.

Т а б л и ц а 2

Влияние растительных средств из *Aconitum baicalense* и препаратов на рост и метастазирование меланомы В-16 у мышей линии F1 (СВА x C57BL/6) ($\bar{X} \pm m$)

Препарат	Число животных	Среднее число метастазов	Торможение роста метастазов, %	Частота метастазирования, %	ИИМ
Контроль	15	18,2±2,2	0	100	-
5-фторурацил	10	15,8±2,6	13	100	13
Контроль	11	16,3±2,7	0	100	-
Бефунгин	8	14,2±3,8	12,9	50*	56
Контроль	9	6,6±3,4	0	78	-
Настойка ₂	5	0,2±0,1*	97*	20*	99
Контроль	10	1,8±0,8	0	80	-
Экстракт жидкий	6	1,7±0,8	5,6	50*	41
Экстракт сухой	8	1,6±1,5	11,1	25*	72
Алкалоиды	7	0*	100*	0*	100

Примечание. * - различия статистически достоверны в сравнении с контролем ($p < 0,05$).

наиболее широко использующийся в онкологической практике [9], и бефунгин (1,0 мл/кг) – полугустой экстракт из чаги (березовый гриб). В экспериментальной медицине применение препаратов чаги приводит к задержке развития перививаемых опухолей, а зачастую и к торможению роста метастазов [2, 3].

Результаты исследования с использованием меланомы В-16 приведены в табл. 2. Мышей линии F₁ (СВА x C57BL/6) с меланомой В-16 начинали лечить на 11-е сут. 5-фторурацил на этой модели не проявил существенной противометастатической активности, отмечена лишь тенденция к снижению среднего числа метастазов, индекс ингибирования метастазирования составил 13%. Под действием бефунгина лишь у 50 % мышей были зафиксированы метастазы в легких (в контроле – у 100 %). Процент торможения роста метастазов (по их количеству) в группе, получавшей бефунгин, равен 12,9 (различие с контролем статистически недостоверно), а в группе, получавшей настойку аконита, – 97 ($p < 0,01$). Под влиянием настойки₂ аконита только у 20 % животных зафиксированы метастазы (в контроле – у 78 %), среднее число метастазов составило 0,2±0,2 (в контроле – 6,6±3,4), индекс ингибирования метастазирования был в 1,8 раза больше, чем в группе мышей, получавших бефунгин (99 против 56% соответственно). Жидкий и сухой

экстракты аконита достоверно снижали частоту метастазирования меланомы В-16. Под действием алкалоидной вытяжки было получено 100 % ингибирование метастазирования, что существенно превосходило по эффективности препарат-прототип бефунгин и препарат сравнения 5-фторурацил.

На следующем этапе мы провели исследование антиметастатической активности на другой модели экспериментальной опухоли - карциноме легких Льюис. Штамм этой опухоли известен высокой степенью поражения легких метастазами. В первой серии экспериментов мышей с перевитыми опухолями оставляли на выживаемость. 5-фторурацил не оказывал достоверного влияния на продолжительность жизни мышей с этой метастазирующей опухолью. Настойка₂ аконита, напротив, в 1,4 раза увеличивала этот показатель, практически так же, как и настойка₁₀ и сухой экстракт. При назначении жидкого экстракта отмечена явная тенденция к увеличению этого параметра. Растительное средство, содержащее сумму алкалоидов, в 1,7 раза увеличивало продолжительность жизни мышей с опухолью (данные не представлены).

Во второй серии экспериментов изучали влияние растительных средств на рост и диссеминацию метастазов, в связи с чем животные забивались на 27-е сут после инокуляции опухоли

вых клеток. Результаты опытов показали, что 5-фторурацил оказал существенное влияние на

ки₁₀, настойки₂ аконита байкальского и растительного средства, содержащего сумму алкалоидов.

Т а б л и ц а 3

Влияние препаратов *Aconitum baicalense* на метастазирование карциномы легкого Льюис у мышей-самцов линии С57В1/6 ($\bar{X} \pm m$)

Препарат	Число животных	Среднее число метастазов	Торможение роста метастазов, %	Частота метастазирования, %	ИИМ
Контроль	10	24,0±5,5	-	100	-
5-фторурацил	10	14,9±1,9*	38	100	38
Контроль	6	14,0±2,1	-	100	-
Бефунгин	5	6,0±1,5*	57	40	83
Контроль	10	28,2±5,2	-	100	-
Настойка ₂	8	14,6±5,8*	48	100	48
Настойка ₁₀	11	10,1 ± 2,9*	64	45,5	84
Жидкий экстракт	11	17,1 ± 5,1	39	72,7	56
Сухой экстракт	10	16,2 ± 4,6	43	80,0	54
Контроль	9	24,4±5,5	-	100	-
Алкалоиды	6	4,5±2,3*	82	82	85

Примечание. * - различия статистически достоверны в сравнении с контролем ($p < 0,05$); ИИМ – индекс ингибирования метастазирования.

среднее количество метастазов (в 1,6 раза снижал этот показатель по сравнению с контролем), но не влиял на частоту метастазирования (табл. 3).

Бефунгин в 2,3 раза уменьшал среднее число метастазов и в 2,5 раза – частоту метастазирования, что сказалось на высоком индексе ингибирования метастазирования – 83 %. Несколько ниже был этот показатель под действием настойки₂ аконита, но среднее число метастазов было в 1,9 раза меньше контрольного. Настойка₁₀ проявила еще более существенный противометастатический эффект, так как в 2,5 раза снижала среднее число метастатических колоний в легких и в 2,2 раза – частоту метастазирования. При введении жидкого и сухого экстрактов выявлена явная тенденция к уменьшению как среднего числа метастазов, так и числа животных с метастазами, при высоком индексе ингибирования метастазирования. Алкалоидная вытяжка в 5,4 раза снижала среднее количество метастазов, у 82 % животных зафиксирована диссеминация опухолевого процесса, индекс ингибции метастазирования составил 85 %.

Таким образом, как видно из представленных данных, все средства, содержащие вытяжки из высушенной и измельченной надземной части аконита байкальского, оказывают умеренное противоопухолевое действие. Достаточно высокий противометастатический эффект выявлен у настой-

ЛИТЕРАТУРА

- 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.
- Гольдберг Е.Д., Зуева Е.П. Препараты из растений в комплексной терапии злокачественных новообразований. Томск, 2000. 130 с.
- Грибель Н.В. Особенности противоопухолевого действия ряда комплексных препаратов природного происхождения: Автореф. дис. ...канд. биол. наук. Томск, 1987. 21 с.
- Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. М.: Медицина, 1978. 293 с.
- Жапова Ц., Мадонова Л.Д., Семенов А.А. Алкалоидность *Aconitum czekanovsky* // Химия природ. соединений. 1985. №5. С.717-718.
- Жапова Ц., Мадонова Л.Д., Семенов А.А. Мезаконитин и гипаконитин из *Aconitum czekanovsky* // Химия природ. соединений. 1985. №5. С.712-715.
- Жапова Ц., Мадонова Л.Д., Семенов А.А. и др. Исследование химического состава *Aconitum czekanovsky* Stenb. // Лекарственные растения в традиционной и народной медицине: Тез. докл. научн. конф. Улан-Удэ, 1987. С.66-67.
- Жапова Ц. Исследования химического состава растения *Aconitum baicalense*: Автореф. дис. ... канд. хим. наук. Иркутск, 1995. 19 с.
- Зидермане А.А. Фторпиримидины в химиотерапии опухолей. Рига: Зинатне, 1982. 173 с.
- Поветьева Т.Н. Механизмы адаптогенного действия лекарственных растений Сибири: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Томск, 2002. 42