

ТОКСИКОЛОГИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ НАСТОЙКИ АКОНИТА БАЙКАЛЬСКОГО (БАЯКОНА)

Г. В. Карпова, Т. И. Фомина, Т. В. Ветошкина, Т. Г. Боровская, О. Л. Воронова, Т. Ю. Дубская, Н. И. Суслов, Е. В. Абрамова, О. П. Лоскутова, Е. Ю. Шерстобоев, В. Г. Пашинский, Т. Н. Поветьева, А. А. Семенов¹

Проведено доклиническое изучение безопасности баякона — лекарственного средства из аконита байкальского для лечения пролиферативно-воспалительных дерматозов (псориаз). При однократном введении крысам и мышам препарат отнесен к малоопасным веществам. Введение баякона в течение 3 мес в желудок крысам в дозах 0,25, 0,5 и 2,5 мл/кг вызывает ряд дозозависимых функциональных и морфологических изменений. Препарат в дозе 2,5 мл/кг вызывает анемию легкой степени гипорегенераторного характера, нейтрофильный лейкоцитоз, дистрофические изменения слизистой желудка, сердца, печени и почек, исчезающие через две недели после отмены баякона. У кроликов введение баякона *per os* в дозах 0,1 и 0,5 мл/кг не вызывает патологических морфофункциональных изменений в изученных органах и тканях. Применение баякона в дозах 2,5, 0,5 и 0,25 мл/кг приводит к дозозависимым изменениям отдельных показателей репродуктивной способности крыс. Препарат не влияет на выраженность аллергических реакций, не обладает иммунотоксическими и мутагенными свойствами.

Ключевые слова: настойка аконита байкальского (баякон), острая токсичность, хроническая токсичность, специфическая токсичность

ВВЕДЕНИЕ

В НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН совместно с Иркутским ИОХ СО РАМН создан лекарственный препарат из надземной части аконита байкальского (аконит Чекановского), собранного в природной популяции в фазе цветения — баякон. Экспериментальные исследования показали, что баякон оказывает антипролиферативное и противовоспалительное действие, что дало основание рекомендовать его для лечения пролиферативно-воспалительных заболеваний, в частности псориаза [5].

Целью настоящей работы явилось экспериментальное изучение хронической и специфической токсичности баякона.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования служила лекарственная форма — настойка аконита байкальского (баякон), которая представляет комплекс действующих и сопутствующих веществ, извлекаемых из измельченной травы аконита байкальского раствором этилового спирта и содержит алкалоидов — 0,007–0,01%, спирта этилового не менее 25%, сухой остаток составляет не менее 1%.

Острую токсичность баякона определяли при однократном введении в желудок через зонд половозрелым крысам Вистар ($n = 54$) и мышам линии СВА ($n = 60$), самкам и самцам. Хроническую токсичность исследовали на 180 крысах (90 самцах и 90 самках) и 12 кроликах. Препарат вводили в желудок в течение трех месяцев крысам в дозах 0,25, 0,5 и 2,5 мл/кг (в 10, 20 и 100 раз выше доз, рекомендуемых для человека), кроликам в дозах 0,1 и 0,5 мл/кг. Животные контрольных групп получали растворитель (спирт этиловый): крысы — 0,5 и 2,5, кролики — 0,5 мл/кг. Группу “фон” составили интактные животные.

Через 1,5 и 3 мес введения баякона и через две недели после его отмены у крыс проводили исследование общего состояния, динамики массы тела, показателей периферической крови, костного мозга, функции печени и почек, ЦНС, сердечно-сосудистой системы (ЭКГ). Исследовали массу и морфологию внутренних органов (головной мозг, сердце, печень, легкие, желудочно-кишечный тракт, почки, надпочечники, тимус, селезенка, лимфатические узлы, половые железы). Состояние кроликов изучали через 3 мес введения баякона [6]. Всех животных получали из питомника “Рассвет” (Томск).

Гематологические исследования (в периферической крови — гемоглобин, эритроциты, ретикулоциты, тромбоциты, лейкоциты, лейкограмма, СОЭ; в костном мозге — общее количество кардиоцитов и миело-

¹ НИИ фармакологии Томского научного центра СО РАМН, Томск, 634028, пр. Ленина, 3.

Таблица 1. Параметры токсичности баякона для экспериментальных животных при внутрижелудочном введении

Животные	Доза, мл/кг			
	ЛД ₁₆	ЛД ₅₀	ЛД ₈₄	ЛД ₉₉
Крысы	3,6 ± 0,8	7,2 ± 0,8 (5,0 ÷ 9,8)	14,1	35,9
Мыши	5,2 ± 1,4	8,5 ± 1,3 (6,1 ÷ 10,5)	12	23

рамма) проводили общепринятыми методами [3]. Осмотическую резистентность эритроцитов (интенсивность гемолиза) у кроликов оценивали с помощью метода изучения гипертонической устойчивости клеток [1]. Биохимические исследования сыворотки крови (общий белок, глюкоза, креатинин, мочевины, аланин- и аспартат-аминотрансферазы, щелочная фосфатаза) проводили с использованием наборов фирмы “Лахема” (Чехия). Об антитоксической и экскреторной функции печени судили по данным бромсульфалеиновой пробы. Состояние выделительной системы (почек) оценивали на фоне водной нагрузки (2% от массы тела), определяя суточный диурез, рН, наличие белка, глюкозы в моче, концентрацию и суточную экскрецию креатинина и мочевины с помощью экспресс-методов и стандартных наборов [2].

Об эмбриотоксичности и тератогенности баякона судили при изучении антенатального и постнатального развития потомства, а также репродуктивной активности крыс (самцов и самок) [6]. Изучение антенатального развития проведено на 192 беременных крысах

Таблица 2. Влияние баякона на уровень доминантных летальных мутаций в зародышевых клетках мышей

Стадия сперматогенеза	Доза, мл/кг	Число беременных	Фертильность, %	Постимплантационная смертность, %	χ^2
Зрелые сперматозоиды	5,2	30	71,4	16,58	5,03
	контроль	16	66,6	7,60	
	1	35	77,7	41,27	1,11
	контроль	36	80,0	45,51	
Поздние сперматиды	0,5	32	71,1	10,32	0,92
	контроль	28	62,2	13,58	
	5,2	20	50,0	11,24	9,81
	контроль	20	52,6	3,91	
Ранние и средние сперматиды	1	23	51,1	11,40	1,66
	контроль	21	50,0	7,26	
	0,5	17	53,1	7,14	0,64
	контроль	22	50,0	10,70	
Ранние и средние сперматиды	5,2	26	69,4	13,51	1,74
	контроль	16	59,2	19,41	
	1	23	52,2	10,61	1,7
	контроль	25	58,1	6,86	
Ранние и средние сперматиды	0,5	26	57,7	9,03	2,71
	контроль	21	60,0	4,06	

Примечание. Разница достоверна при $\chi^2 > 3,8$.

Вистар, которым вводили препарат с 1-го по 6-й, с 6-го по 16-й и с 16-го по 19-й день беременности в дозах 2,5, 0,5 и 0,25 мл/кг. Воздействие на постнатальное развитие оценивали при изучении потомства от 11 самок, получавших в течение всего периода беременности препарат в дозе 0,5 мл/кг. Данные о влиянии на репродуктивную способность получены при обследовании 80 самцов и 160 самок. Баякон вводили в дозе 2,5 мл/кг самцам в течение 60 дней, а самкам — 15 дней до скрещивания с интактными животными.

Мутагенные свойства баякона определяли в дозах 3,5 (1/2 ЛД₅₀) и 10,5 мл/кг (максимально возможная при внутрижелудочном введении крысам) при анализе хромосомных aberrаций клеток костного мозга и в дозах 5,2 и 1 мл/кг при учете доминантных летальных мутаций в зародышевых клетках мышей. Использовано 46 крыс Вистар массой 200 – 250 г, и 720 мышей линии С57BL/6 и СВА в возрасте 10 – 12 нед. Определение индукции генных мутаций баякона в 0,001 – 0,005% концентрации проведено в тест-системе соматического мозаицизма клеток крыла *Drosophila melanogaster* [6].

Исследование аллергенных свойств препарата проведено на 60 морских свинках и 30 крысах Вистар с использованием реакции гиперчувствительности немедленного типа (дозы — 0,08 и 0,008 мл в течение 5 дней) и метода непрямой дегрануляции тучных клеток (доза 2,5 мл/кг в течение 3 нед) [6]. Иммуномодулирующие свойства исследовали на 60 мышях линии СВА, оценивая влияние баякона в дозах 0,4 и 4 мл/кг (в течение 5 дней) на антителообразование, интенсивность реакции гиперчувствительности замедленного типа и “трансплантат против хозяина”.

Результаты обрабатывали статистически с использованием *t*-критерия Стьюдента, Вилкоксона-Манна-Уитни и углового преобразования Фишера [4].

Таблица 3. Влияние баякона на эмбриональное развитие крыс (с 6-го по 16-й день беременности)

Группа	Доза	Число животных	Преимплантационная смертность	Постимплантационная смертность
Баякон	2,5	14	10,4 ± 4,3**	14,4 ± 4,1***
	0,5	13	10,4 ± 2,6***	4,0 ± 1,3
	0,25	13	13,8 ± 4,6**	4,4 ± 1,9
Контроль (спирт этиловый)	2,5	13	9,7 ± 3,2*	1,3 ± 0,9
	0,5	14	5,8 ± 4,1	5,5 ± 1,9
	0,25	14	10,9 ± 3,7*	4,2 ± 1,7
Контроль (дистиллированная вода)		60	2,6 ± 0,1	5,6 ± 1,6

Примечание. Различия достоверны при сравнении с контролем: * — спирт этиловый ($p \leq 0,05$); ** — дистиллированная вода.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлены параметры острой токсичности баякона для крыс и мышей (табл. 1) при внутрижелудочном его введении с использованием пробит-анализа. Показано слабо выраженное различие видовой чувствительности с большим диапазоном между среднесмертельной и среднеэффективной дозами (для мышей — 36, для крыс — 17), что делает препарат практически безопасным [7].

В хроническом трехмесячном эксперименте на крысах и кроликах баякон не вызывал видимых патологических изменений общего состояния. Динамика массы тела животных опытных групп не отличалась от таковой контрольных и интактных животных. Через 3 мес введения препарата прирост массы составил у крыс 1, 2 и 3-й опытных групп соответственно 105, 133 и 100, фоновой — 103, контрольных — 106 и 109%. При введении баякона крысам в максимальной дозе (2,5 мл/кг), так же как и растворителя, наблюдалось развитие легкой степени анемии гипорегенераторного характера, умеренного нейтрофильного лейкоцитоза, проходящих через 2 нед после отмены препарата. Исследование биохимии сыворотки крови выявило у крыс после введения больших доз баякона и растворителя увеличение активности трансаминаз, уровня мочевины, снижение концентрации креатинина. Указанные изменения носят дозозависимый и обратимый характер, через две недели после отмены препарата показатели нормализуются. Содержание глюкозы, белка, а также показатели бромсульфалеиновой пробы не изменялись. При исследовании мочи у крыс через 3 мес введения баякона в больших дозах выявлено дозозависимое снижение диуреза, увеличение экскреции мочевины. Через 2 нед после отмены препарата у животных 3-й группы (доза — 2,5 мл/кг) эти изменения сохранялись.

Длительное введение баякона крысам не оказывало токсического влияния на показатели электрокардиограммы. У крыс-самцов, получавших препарат в больших дозах, отмечалось снижение эмоциональной реакции, а у самок в дозе 0,5 мл/кг — увеличение. Баякон не оказывал влияние на показатели ориентировочно-исследовательского поведения (двигательную реакцию).

У крыс при макроскопическом исследовании наблюдалось увеличение массы сердца, более характерное для самок и сохраняющееся у животных через две недели после отмены препарата в дозе 2,5 мл/кг. При микроскопическом исследовании у крыс в желудке отмечены явления поверхностного гастрита, более выраженные у животных, получавших препарат в максимальной дозе. В печени, почках и миокарде наблюдались дистрофические изменения, которые носили дозозависимый характер и сохранялись у некоторых животных через 2 недели после отмены препарата и растворителя в большой дозе. Макро- и микроскопическое исследование

внутренних органов кроликов, получавших баякон, не выявило какой-либо патологии.

При изучении специфических видов токсичности обнаружено, что баякон не влияет на реакции гиперчувствительности немедленного типа и не оказывает сенсibiliзирующего и иммунотропного действия.

Изучение мутагенных свойств показало, что однократное введение крысам препарата в дозе 3,5 и 10,5 мл/кг не вызывало увеличения уровня цитогенетических нарушений в клетках костного мозга. Введение баякона мышам в дозе 5,2 мл/кг приводило к умеренному увеличению числа доминантных летальных мутаций на первой и второй стадии сперматогенеза, при снижении дозы (1 мл/кг) отмеченный эффект исчезал (табл. 2). Препарат в 0,001 – 0,005% концентрации не изменял частоту мозаичных пятен крыла дрозофилы.

Изучение антенатального развития показало, что введение баякона беременным самкам в дозе 2,5 мл/кг в период органогенеза увеличивало постимплантационную смертность, а в дозе 0,5 мл/кг — преимплантационную гибель (табл. 3). При введении препарата с 1-го по 6-й и с 6-го по 16-й дни беременности в дозе 2,5 мл/кг у 4% плодов выявлен гидронефроз, чего не наблюдалось среди плодов контрольной группы. Кроме того, отмечалось ускорение процессов окостенения отдельных частей скелета. При снижении дозы этот эффект исчезал. Изучение постнатального развития показало, что масса крысят этой группы на 5-й день жизни была ниже, чем у контрольных животных. Кроме того, у крысят, полученных от самок опытной группы, выявлено замедление скорости формирования сенсорно-двигательных рефлексов в тестах “переворачивание на плоскости” и “мышечная сила”. Изучение репродуктивной активности крыс (самцов и самок) показало, что введение баякона не оказывало влияния на способность и эффективность спаривания. Однако у самок, получавших препарат в дозе 2,5 мл/кг в течение 15 дней до зачатия, отмечалось повышение эмбриональной гибели. При снижении дозы этот эффект исчезал. Показатели пре- и постимплантационной смертности у интактных самок, скрещенных с самцами, которым баякон вводили в дозе 2,5 мл/кг в течение 60 дней до спаривания, не возрастали. Однако у родившегося потомства наблюдалась задержка физического развития. При снижении дозы препарата крысят опытной группы не отставали в физическом развитии от контрольных.

ВЫВОДЫ

1. Баякон (настойка аконита байкальского) при однократном введении в желудок крысам и мышам малотоксичен и относится к группе малоопасных лекарственных средств.

2. Баякон в хроническом трехмесячном эксперименте на крысах (0,25 и 0,5 мл/кг) и кроликах (0,1 и

0,5 мл/кг) не влияет на функциональное и морфологическое состояние основных органов и систем организма. Введение крысам препарата в дозе 2,5 мл/кг приводит к развитию обратимых изменений: легкой степени анемии гипорегенераторного характера, нейтрофильному лейкоцитозу, дистрофическим изменениям желудка, сердца, печени и почек.

3. Баякон в дозах 2,5; 0,5 и 0,25 мл/кг беременным крысам, а также самцам и самкам до скрещивания вызывает, как правило, дозозависимые изменения отдельных показателей репродуктивной системы.

4. Баякон не обладает аллергенными и иммунотоксическими свойствами.

5. Баякон (3,5 и 10,5 мл/кг) не изменяет уровень хромосомных aberrаций с клетках костного мозга крыс, а в 0,001 – 0,005% концентрациях — частоту мозаичных пятен крыла дрозофилы; в дозе 5,2 мл/кг вы-

зывает у мышей увеличение числа доминантных летальных мутаций на первой и второй стадии сперматогенеза. При снижении дозы отмеченный эффект исчезает.

ЛИТЕРАТУРА

1. М. В. Голованов, *Гематол. и трансфузиол.*, № 7, 39 – 40 (1991).
2. В. Г. Колб, В. С. Камышников, *Справочник по клинической химии*, Минск (1982).
3. *Лабораторные методы исследования в клинике*, В. В. Меньшиков (ред.), Москва (1987).
4. Г. Ф. Лакин, *Биометрия*, Москва (1980).
5. Т. Н. Поветьева, *Автореф. дис. канд. наук*, Томск (1990).
6. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Москва (2000).
7. Н. В. Саноцкий, *Методы определения токсичности и опасности химических веществ*, Москва (1970).

Поступила 03.04.2001

PRECLINICAL TOXICOLOGICAL INVESTIGATION OF A BAIKAL ACONITE TINCTURE (BAYAICON)

G. V. Karpova, T. I. Fomina, T. V. Vetoshkina, T. G. Borovskaya, O. L. Voronova, T. Yu. Dubskaya, N. I. Suslov, E. V. Abramova, O. P. Loskutova, E. Yu. Sherstoboev, V. G. Pashinskii, T. N. Povet'eva, and A. A. Semenov

Institute of Pharmacology, Tomsk Scientific Center, Siberian Division, Russian Academy of Medical Sciences, pr. Lenina 3, Tomsk, 634028 Russia

The safety of bayaicon, a new drug based on Baikal aconite intended for the treatment of inflammation-proliferative dermatitis (psoriasis), was studied on a preclinical level. With respect to a single introduction in rats and mice, the drug is classified as a low-toxicity substance. However, a 3-month oral administration of bayaicon (0.25, 0.5, and 2.5 mg/kg) in rats showed a number of dose-dependent functional and morphological changes. A dose of 2.5 mg/kg induced weak hyporegenerative anemia, neutrophile leukocytosis, and dystrophic changes in the stomach mucosa, heart, liver, and kidneys. All these symptoms disappeared within two weeks after abolition of the drug. Oral administration of bayaicon (0.1 and 0.5 mg/kg) in rabbits produced no pathological morphofunctional changes in the organs and tissues studied. In rats, bayaicon 2.5, 0.5, and 0.25 mg/kg doses of bayaicon led to dose-dependent changes in some characteristics of the reproduction system. The drug did not influence the expression of allergic reactions and showed no immunotoxicity and mutagenicity manifestations.