

Российская академия медицинских наук  
Сибирское отделение  
ГУ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
КЛИНИЧЕСКОЙ ИММУНОЛОГИИ

**ИММУНОПАТОГЕНЕЗ И ИММУНОТЕРАПИЯ  
ОСНОВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА:  
ОТ ЭКСПЕРИМЕНТА К КЛИНИКЕ**

Материалы 7-й отчетной конференции  
ГУ НИИКИ СО РАМН

Под редакцией:  
Директора ГУ НИИКИ СО РАМН  
академика РАМН, профессора В. А. Козлова

Scientific report 2006  
Institute of Clinical Immunology  
Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences

Новосибирск  
2006 г.

## ИММУНОДЕПРЕССИВНЫЕ СВОЙСТВА НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО АРИЛГЕТЕРОАЛКАНКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

*Колесникова О.П., Кудаева О.Т., \*Шурлыгина А.В., Лыков А.П.,  
Гойман Е.В., Ненашева Е.В., Гольдина И.А., Сафронова И.В.,  
Гайдуль К.В., Козлов В.А.*

**ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН, Новосибирск**  
**\*ГУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии**  
**СО РАМН, Новосибирск**

Актуальной проблемой является создание препаратов с селективной способностью изменять баланс Th1/Th2 клеток. Проведен поиск биологически активных соединений с иммуноактивными свойствами среди новых производных замещенных индолилалканкарбоновых кислот (3-(2,2,2-трихлор-1-фенилсульфонамидоэтил)-1-метилиндол, 3-[2,2,2-трихлор-1-(4-хлорфенил)сульфонамидоэтил-1-метилиндол)); производных ароксисукусных кислот [2-метилфеноксиацетаты диметил-(2-гидроксиэтил)аммония), метил-бис-(2-гидроксиэтил)аммония), бис- и трис-(2-гидроксиэтил)аммония, 2-метил-4-хлорфеноксиацетат трис-(2-гидроксиэтил)аммония]. Некоторые из этих соединений, а также алканоламмониевые соли арилсульфанил – и арилсульфонилуксусных кислот являются биологически активными соединениями с иммуномодулирующими, антиагрегационными, противовоспалительными, канцеростатическими, протекто-адаптационными свойствами. Проводятся исследования по выявлению ценных биологических свойств металлоатрановых и атраноподобных производных триэтанолamina (боратран, ванадатран, 1-окси-1-оксомолибдатран, комплексы с солями кобальта, марганца, никеля, железа, цинка, меди, кальция, магния, лития, родия и др.). Получены данные, что некоторые из этих соединений являются экологически чистыми высокоэффективными биологически активными соединениями, донорами биомикроэлементов, прекурсорами металлоферментов. Они отличаются растворимостью в воде, биодоступностью. У производных биомикроэлементов выявлены адаптогенные, антитоксические, регенерационные свойства. Производные оксазолидиния (хлориды 2-(алкилтиометилен)-3,3-диалкил-1,3-оксазолидиния) обладают широким спектром антибактериального и высокого (82–100%) противоопухолевого действия.

На основании скрининга иммуноактивных свойств оригинальных соединений класса арилгетероалканкарбоновых кислот отобрано соединение из ряда трис-(2-гидроксиэтил)аммониевых солей производных индолил-3-тиоуксусной кислоты, как потенциальное лекарственное средство новой химической группы, способное селективно подавлять активность Th2 клеток и тем самым изменять баланс Th1/Th2. Иммуносупрессивные свойства соединения выявляются в экспериментальных моделях Т-зависимой активации В-клеток (модель Th2-опосредованного иммунокомплексного гломерулонефрита и модель IgM-ответа на Т-зависимый антиген у интактных мышей). Не обнаружено какого-либо иммуноактивного эффекта соединения на клеточные реакции иммунитета – ГЗТ, РТПХ у интактных мышей. Изучение клеточного состава и морфометрических показателей лимфоидных органов интактных мышей выявило, что действие вещества наиболее заметно в отношении В-клеточного звена иммунной системы: во вторичных лимфоидных органах примерно в два раза уменьшается количество плазматических клеток, представляющих зрелую субпопуляцию В-лимфоцитов, достоверно уменьшается площадь фолликулов белой пульпы и размеры В-зависимых зон селезенки. На модели хронической РТПХ установлено: соединение уменьшает относительное число реципиентов *lupus*, что может свидетельствовать о его способности изменять баланс Th1/Th2 в сторону Th1-клеток. Изучение соотношения подклассов IgG подтверждает это предположение: наблюдается изменение соотношения IgG1/IgG2a от 2.60 в контроле до 1.72 под влиянием соединения, то есть в сторону Th1-зависимого подкласса IgG2a. Подтверждением способности соединения *in vivo* поляризовать Th1/Th2 являются данные о его эффективности и для коррекции уже развившейся Th2-зависимой патологии *lupus*-нефрита. Соединение относится к малотоксичным веществам, но так же как и азатиоприн эффективно снижает протеинурию при иммунокомплексном гломерулонефрите (соединение вызывает эффект в дозе на порядок ниже относительно LD50, чем азатиоприн), что подтверждается морфологическими данными (по некоторым морфологическим параметрам соединение превосходит азатиоприн). Соединение обладает выраженными антипролиферативными свойствами в отношении спонтанной и митоген-стимулированной пролиферации (ConA, PWM) клеток селезенки и МНК доноров, при этом Т-клеточное звено является более чув-

ствительным к антипролиферативному действию соединения, т. к. ConA-стимулированная пролиферация подавляется уже минимальной дозой. В модели постциклофосфановой регенерации установлено, что соединение и циклофосфан обладают разным механизмом иммунодепрессивного действия. Сходство обоих иммунодепрессантов в том, что они достоверно снижают относительное количество тимоцитов в фазах S и G<sub>2</sub>+M клеточного цикла, а отличие заключается в том, что циклофосфан стимулирует апоптоз в тимусе (достоверно увеличен процент гиподиплоидных клеток), а соединение отменяет стимуляцию апоптоза и достоверно увеличивает процент клеток в фазе G<sub>0</sub>+G<sub>1</sub>. Установлено, что соединение, обладающее ингибирующим эффектом на активацию В-системы иммунитета, подавляет экспрессию мРНК гена ИЛ-4 и спонтанную/стимулированную продукцию ИЛ-4, но стимулирует экспрессию мРНК гена ИЛ-6 и спонтанную/стимулированную продукцию ИЛ-6 МНК крови здоровых лиц *in vitro*. Не выявлено эффекта соединения на спонтанную продукцию ИЛ-2 и ИФγ, стимулированная продукция этих цитокинов подавляется (для ИЛ-2 дозозависимо). Не выявляется какого-либо эффекта на экспрессию мРНК гена ИЛ-1β и ФНОα и продукцию этих цитокинов.

## **IMMUNOSUPPRESSIVE PROPERTIES OF THE NEW DERIVATIVE OF ARYLHETEROALKANECARBOXYLIC ACIDS**

*Kolesnikova O.P., Kudaeva O.T., \*Shurlygina A.V., Lykov A.P.,  
Goiman E.V., Nenasheva E.V., Goldina I.A., Safronova I.V.,  
Gaidul K.V., Kozlov V.A.*

*State Research Institute of Clinical Immunology SB RAMS,  
Novosibirsk, Russia*

**\*State Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology  
SB RAMS, Novosibirsk, Russia**

The actual problem is a creation of preparations with a selective ability to change the balance of Th1/Th2. The retrieval for biologically active compounds with the immunoactive properties is carried out among the new derivatives of substituted indolylalkanecarboxylic acids (3-(2,2,2-trichloro-1-phenylsulfonamidoethyl)-1-methylindole, 3[2,2,2-trichloro-1-(4-chlorophenyl)sulfonamidoethyl]1-methylindole)); the derivatives of aroxyacetic acids [2-methylphenoxyacetates dimethyl-(2-hydroxyethyl)ammonium),

methyl-bis-(2-hydroxyethyl)ammonium), bis- and tris-(2-hydroxyethyl)ammonium, 2-methyl-4-chlorophenoxyacetate tris-(2-hydroxyethyl)ammonium]. Some of these compounds, and also Alkanolammonium salts of arylsulfanyl – and arylsulfonylacetic acids are the biologically active compounds with immunomodulatory, anti-aggregative, antipyretic, carcinostatic, protective-adaptative properties. Studies on the development of valuable biological properties of metalloatran and atranic(like) derivatives of triethanolamine (boratran, vanadatran, 1-hydroxy-1-oxymolibdatran, complexes with the salts of cobalt, manganese, nickel, iron, zinc, copper, calcium, magnesium, lithium, rhodium, etc.) are carried out. Data, that some of these compounds are ecologically clean highly effective biologically active compounds, the donors of biomicroelements, the precursors of metalloenzymes are obtained. They differ by solubility in water, by bioavailability. The adaptogenic, antitoxic, regeneration properties are revealed in derivatives of biomicroelements. Derivatives of oxazolidinium (chlorides of 2-(alkylthiomethylen)-3,3-dialkyl-1,3-oxazolidinium) possess the wide spectrum of antibacterial and high (82–100%) antineoplastic action.

On the grounds of screening of immunoactive characteristic of the original joining the class with arylheteroalkanecarboxylic acid the compound 1-benzylindol-3-ylthioacetate tris-(2-hydroxyethyl)ammonium salt, is selected as potential medicinal facility of the new chemical group, capable selectively to suppress the activity of the Th2 and hereunder change the balance Th1/Th2. Immunosuppressive characteristics of the join are revealed in experimental models of T-mediated activation of B-cells (model of Th2-mediated immune complex-dependent glomerulonephritis and model IgM-response to T-dependent antigen into normal mice). No immunoactive effect of the join is discovered on cellular immune reactions – DTH, GVHD in intact mice. The study of the cellular composition and morphometrics factors of the lymphoid organs of intact mice has revealed that action of material is most noticeably in respect of B-cells link of the immune systems: in secondary lymphoid organ approximately in two times decreases the amount of the plasmatic B-cells, presenting mature subpopulation of the B-lymphocytes, realistically decreases the area follicular of white pulp and sizes of B-dependent zones of the spleen. On the models of chronic GVHD it is installed: the join reduces the relative number of recipient-lupus that can be indicative of its abilities to change the balance Th1/Th2 in direct to Th1. The study of the correlation subclass of IgG confirms this suggestion: there are the correlation

IgG1/IgG2a from 2.60 in checking before 1.72 under influence of the join that is to say aside Th1-dependent subclass of IgG2a. The acknowledgement about abilities of the join in vivo to polarize Th1/Th2 is given about its efficiency and for correcting already developed Th2-dependent pathology lupus-nephritis. The join is not toxic material, but as well as azathioprine effectively reduces proteinuria in mice with immune complex-dependent glomerulonephritis (the join causes the effect in dose on order below comparatively LD50, than azathioprine), as evidenced by morphological given (on some morphological parameter the join exceeds azathioprine). The join possesses the expressed antiproliferative characteristic in respect of spontaneous and mitogen-stimulated proliferation (Con A, PWM) of the splenocytes and MNC from donors, herewith T-cell section is more sensitive to antiproliferative action of the join, such as Con A-stimulated proliferation is suppressed already by minimum dose. In models of the post-cyclophosphan regenerations is installed that the join and cyclophosph possess the miscellaneous by mechanism immunosuppressive actions. Resemblance of both immunosuppressors in that that they realistically reduce the relative amount of thymocytes in phase S and G<sub>2</sub>+M of the cellular cycle, but difference is concluded in that that cyclophosphan stimulates the apoptosis in thymocytes (realistically % of the hypodyploid cells is increased), but the join abolished the stimulation of apoptosis and realistically enlarges % of cells in phase G<sub>0</sub>+G<sub>1</sub> of cell cycle. It is installed that the join, possessing suppressing effect through activation of the B-system of immunity, suppresses the expression mRNA gene of IL-4 and spontaneous/stimulated production of IL-4, but stimulates the expression of mRNA gene of IL-6 and spontaneous/stimulated production of IL-6 by MNC from donors in vitro. Not effect of the join is revealed on spontaneous production of IL-2 and of  $\gamma$ -INF, but the stimulated production of those cytokine is suppressed (for IL-2 in dose-dependent manner). No other action of the compound on the expression of the mRNA gene of IL-1 $\beta$  and TNF $\alpha$  and on the production of these cytokines is revealed.