

УДК 612.017.1:612.8

## СКРИНИНГ ИММУНОАКТИВНЫХ СВОЙСТВ КОМПЛЕКСОВ ТРИЭТАНОЛАМИНА С СОЛЯМИ БИОМИКРОЭЛЕМЕНТОВ

Ольга Петровна КОЛЕСНИКОВА<sup>1</sup>, Анна Николаевна МИРСКОВА<sup>2</sup>, Сергей Николаевич АДАМОВИЧ<sup>2</sup>, Галина Алексеевна КУЗНЕЦОВА<sup>2</sup>, Ольга Тимофеевна КУДАЕВА<sup>1</sup>, Ирина Александровна ГОЛЬДИНА<sup>1</sup>, Ирина Васильевна САФРОНОВА<sup>1</sup>, Рудольф Григорьевич МИРСКОВ<sup>2</sup>, Константин Валентинович ГАЙДУЛЬ<sup>1</sup>, Михаил Григорьевич ВОРОНКОВ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>НИИ клинической иммунологии СО РАМН  
630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14

<sup>2</sup>Иркутский институт химии им. А.Е.Фаворского СО РАН  
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1

Проведен скрининг иммуотропной активности 17 оригинальных соединений из нового класса биологически активных веществ — бикомпонентных комплексов  $\text{MX}_m \cdot [(\text{HOCH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}]_n$ ,  $n = 1, 2$ ;  $m = 1-3$ , полученных на основе солей биомикроэлементов Mg, Ca, Zn, Mn, Cu, Fe, Co, Ni, Cd, Rh (M) с соляной или уксусной кислотой ( $X = \text{Cl}, \text{CH}_3\text{COO}$ ) и триэтанолamina  $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH})_3$ , и внутрикомплексных производных триэтанолamina-1-оксованадатрана, боратрана, 1-оксо-1-гидроксимолибдатрана. В ряду комплексных соединений триэтанолamina с солями биомикроэлементов в тестах *in vitro* и *in vivo* выявлены малотоксичные высокоэффективные вещества, обладающие иммуноактивными свойствами. Комплексные соединения марганца, кобальта, родия проявляют избирательные иммуноактивные свойства — способность стимулировать либо гуморальный, либо клеточный иммунный ответ в тестах IgM-антителообразования, гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) на тимусзависимый антиген (эритроциты барана) у интактных мышей. У соединения 1-оксованадатран обнаружены выраженные антипролиферативные свойства в культуре лимфоидных клеток от интактных мышей и практически их полное отсутствие в культуре клеток меланомы B16, лимфолейкоза L1210, мастоцитомы P815, аденокарциномы Льюиса LLC.

**Ключевые слова:** комплексные соединения триэтанолamina с солями биомикроэлементов; иммуноактивные и противоопухолевые свойства.

Современные подходы к иммуномодулирующей терапии основываются на концепции дисбаланса Th1/Th2-клеток и соответственно превалирования клеточного иммунного ответа и продукции провоспалительных цитокинов Th1-лимфоцитами при аутоиммунных заболеваниях и, напротив, преобладания гуморального иммунного ответа и продукции противовоспалительных цитокинов Th2-лимфоцитами при аллергии. С учетом этих данных понятно, что иммуномодулирующая терапия при аутоиммунных заболеваниях должна включать препараты, понижающие активность Th1-клеток и повышающие активность Th2-клеток, при аллергических заболеваниях — снижающих активность Th2-клеток и повышающих активность Th1-клеток [1]. Однако все имеющиеся на сегодня иммуотропные препараты обладают поликлональным характером действия, т. е. они либо сти-

мулируют (иммуностимуляторы), либо подавляют все звенья иммунитета (иммунодепрессанты), что обуславливает актуальность создания иммуотропных препаратов с избирательным действием, способных изменять баланс Th1/Th2-клеток в нужном направлении.

Внутрикомплексные соединения триэтанолamina (ТЭА) с различными элементами  $\text{X}_{n-3}\text{M}^n \cdot (\text{OCH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$ , где  $n$  — валентность, X — органический или неорганический заместитель, M — атомы Si, Ge, B, V, Mo и др., обладают специфической биологической активностью. Некоторые из них, например, «силатраны» ( $M = \text{Si}$ ) уже нашли применение в медицине и сельском хозяйстве [2–6]. Известна способность «металлоатранов» ( $M = \text{V}, \text{B}, \text{Mo}$ ) эффективно повышать урожайность сельскохозяйственных культур, активность ферментов оксидоредуктаз, участвующих в азотном обмене [5].

Колесникова О.П. — д.м.н., зав. лабораторией экспериментальной иммунотерапии, e-mail: iscreen2001@mail.ru

Мирскова А.Н. — д.х.н., проф., главн.н.с. Института химии, e-mail: mirskova@irioch.irk.ru

Адамович С.Н. — канд.х.н., старш.н.с.

Кузнецова Г.А. — канд.х.н., н.с.

Кудяева О.Т. — д.б.н., вед.н.с.

Гольдина И.А. — н.с.

Сафронова И.В. — канд.м.н., н.с.

Мирсков Р.Г. — д.х.н., проф., вед.н.с.

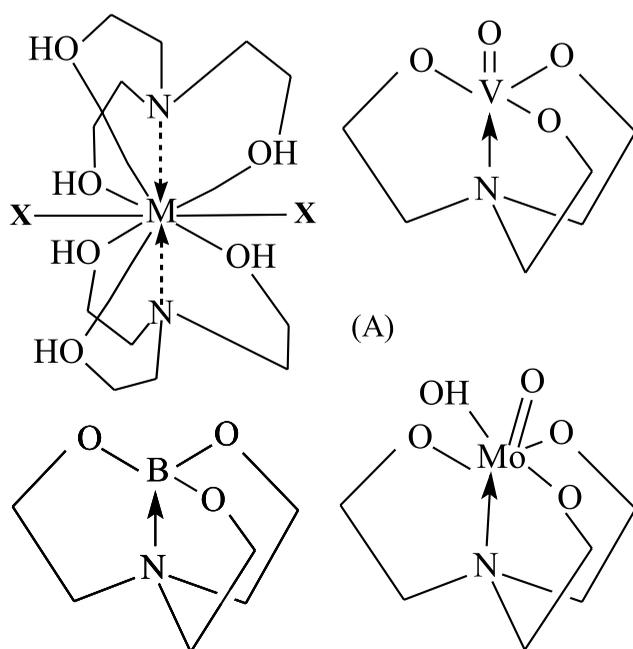
Гайдуль К.В. — д.м.н., проф.

Воронков М.Г. — академик РАН

С-Гидроксилсодержащие аналоги металлоатранов, О-гидрометаллоатраны, в которых координационными являются одна, две или три связи М–О, исследованы недостаточно [7, 8]. Недавно показано [9], что О-гидрометаллоатраны  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{M} \cdot [(\text{HOCH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}]_n$  (где М = Zn, Mn, Ni; n = 1, 2) в концентрациях  $10^{-4}$ – $10^{-6}$  М стимулируют (М = Zn) или ингибируют (М = Mn, Ni) рост растительных клеток.

Учитывая изложенное, поиск биологически активных соединений среди оригинальных комплексных соединений триэтанолamina с солями биомикроэлементов является актуальным. Соединения этого типа служат биодоступными донорами микроэлементов, прекурсорами металлоферментов. Они обладают более высокой проницаемостью через клеточные мембраны, чем неорганические соединения.

Нами впервые исследованы иммуноактивные свойства бикомпонентных комплексов  $\text{MXm} \cdot [(\text{HOCH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}]_n$ , n = 1, 2; m = 1–3 (А), полученных на основе солей биомикроэлементов Mg, Ca, Zn, Mn, Cu, Fe, Co, Ni, Cd, Rh (М) с соляной или уксусной кислотой (X = Cl,  $\text{CH}_3\text{COO}$ ) и биогенного амина — триэтанолamina  $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH})_3$ . Состав и строение комплексов доказаны методами элементного анализа, инфракрасной и ядерномагниторезонансной спектроскопии [10]. Аналогично комплексам триэтанолamina с солями иттрия и кадмия  $2\text{TЭА} \cdot \text{Y}(\text{ClO}_4)_3$  и  $2\text{TЭА} \cdot \text{Cd}(\text{NO}_3)_2$  [7, 8], синтезированные соединения  $\text{MXm} \cdot [(\text{HOCH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}]_n$  имеют структуру О-гидрометаллоатранов типа (А):



Впервые изучены также иммуноактивные и противоопухолевые свойства внутрикомплексных производных триэтанолamina — 1-оксованадатрана [11], боратрана [12], 1-оксо-1-гидроксимолибдатрана [13].

#### Материал и методы

Определение острой токсичности синтезированных соединений, выполненное на беспородных белых мышах при однократном внутрижелудочном способе введения, показало, что они малотоксичны:  $\text{LD}_{50}$  675–4000,  $\text{LD}_{100}$  2000–6000 мг/кг.

Все соединения растворяли в среде RPMI. Испытания проводили в несколько серий опытов, каждая из которых имела свой контроль. Контрольные и опытные группы состояли из 10 мышей. В работе использовали здоровых половозрелых мышей-гибридов (CBA×C57BL/6) F1 (CBF1), (C57BL/6×DBA/2)F1 (BDF1) обоего пола, 8–10-недельного возраста, массой 18–20 г. Разброс в группах по исходной массе тела не превышал 10%. Контрольные и опытные животные — одного возраста, получены одновременно из одного питомника («Рассвет», г. Томск). Контрольные и опытные животные содержались в виварии в одинаковых условиях: в стандартных пластиковых клетках с мелкой древесной стружкой (не более 10 особей) на стандартном рационе. Все исследования проводились в одно и то же время суток (утром). Опыты проводили в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите животных (Страсбург, 1986) и одобренными комитетом по биомедицинской этике НИИ клинической иммунологии СО РАМН.

Культуральные среды, реагенты и планшеты: RPMI-1640, среда 199 (НПО «Вектор», г. Новосибирск), раствор Хенкса, физиологический раствор, забуференный фосфатным буфером (0,2 М, pH 7,4). 96-луночные круглодонные планшеты для культивирования Linbro (Flow Lab).

Определение количества IgM-антителообразующих клеток (АОК) in vivo. Соединения в дозе 10 мг/кг в объеме 0,5 мл вводили внутрибрюшинно один раз в сутки ежедневно в течение 5 дней. Контрольным животным в таком же объеме и режиме вводили среду RPMI-1640. В день последнего введения соединений или одновременно с введением эритроцитов барана (ЭБ) животных иммунизировали внутривенно ЭБ в дозе  $0,5 \times 10^7$ /мышь. Количество IgM-АОК в селезенке мышей оценивали на 4-е сутки после иммунизации по количеству зон локального гемолиза в полужидкой среде

модифицированным методом [14]. Результаты выражали в абсолютном количестве IgM-АОК в селезенке.

Реакция гиперчувствительности замедленного типа *in vivo*. Соединения в дозе 10 мг/кг в объеме 0,5 мл вводили внутривентрально один раз в сутки ежедневно в течение 5 дней. Контрольным животным в таком же объеме и режиме вводили среду RPMI-1640. В день последнего введения соединений мышей сенсибилизировали внутривентральным введением 0,25% ЭБ в объеме 0,5 мл, на 4-е сутки после сенсибилизации вводили разрешающую дозу антигена под подошвенный апоневроз правой задней лапы (50% ЭБ в объеме 50 мкл). В контрольную лапу вводили растворитель в том же объеме. Контрольным животным в таком же объеме и режиме вводили среду RPMI-1640. Реакцию оценивали по методике локальной ГЗТ [15] через 24 часа после введения разрешающей дозы ЭБ, величину отека определяли штангенциркулем. Результаты выражали в процентах.

Оценка влияния соединений на спонтанную и стимулированную конканавалином А (Con A) и митогеном лаконоса (PWM) пролиферацию клеток *in vitro*. Селезенки мышей забирали в стерильных условиях и готовили клеточную суспензию: селезенки помещали во флакончики со средой, расстригали ножницами, многократно пропускали через шприц с иглами уменьшающегося диаметра, фильтровали через металлическую сеточку и 3 раза отмывали центрифугированием при 1000 об./мин в течение 10 мин со сменой среды. Осадок клеток селезенки ресуспендировали в полной среде RPMI-164, содержащей 10% эмбриональной сыворотки телят, 10 mM HEPES,  $4 \times 10^{-5}$  M 2-меркаптоэтанол, 2 mM L-глутамин, 50 мкг/мл гентамицин, и подсчитывали их общее количество. Полученную клеточную суспензию доводили до концентрации  $0,7 \times 10^6$  клеток/мл полной среды и помещали в 96-луночные круглодонные планшеты для культивирования по  $10^5$  клеток/луночку в объеме 150 мкл/луночку. Добавляли оптимальные дозы митогенов Con A, PWM, определенные в предварительных опытах (2 и 1 мкг/мл соответственно) в объеме 10 мкл. Для оценки спонтанной пролиферации в лунки добавляли 10 мкл среды RPMI-1640. Все пробы проводились в триплетах. Соединения в различных дозах вносили в лунки одновременно с митогенами. Инкубацию клеточной культуры проводили при  $+37^\circ\text{C}$  в атмосфере, содержащей 5%  $\text{CO}_2$ , в течение 72 часов. Пролиферативную активность клеток оценивали по включению  $\text{H}^3$ -тимидина в ДНК делящихся клеток. Метки

вносили за 16 ч до конца культивирования по 1 мкКи в каждую лунку планшета. Для этого основной раствор  $\text{H}^3$ -тимидина сначала растворяли в среде RPMI-1640 до концентрации 100 мкКи/мл, а затем по 10 мкл раствора добавляли в каждую лунку планшета. По окончании инкубации клетки собирали на стеклянно-волоконистые фильтры (Flow Lab, США) с помощью аппарата «Harvester» (TITERTEK, США). Фильтры помещали во флаконы для сцинтилляционного счета, и радиоактивность подсчитывали в сцинтилляторе (4 г дифениллоксазола и 0,1 г дифенил-оксазолбензола на 1 л толуола) в жидкостном сцинтилляционном счетчике «Delta» (США). Результаты оценивали в имп./мин на  $10^5$  клеток, подсчитывали средние значения по триплету. Оценка данных проводилась в абсолютных значениях (имп./мин).

Оценка противоопухолевой активности соединений *in vitro*. Культивирование клеток и оценка их пролиферативной активности проводилась согласно протоколу для культивирования лимфоидных клеток (описано выше); количество клеток линии составляло  $10^4$ /луночку, время культивирования — 24 часа,  $\text{H}^3$ -тимидин добавляли за 4 часа до конца культивирования. Препарат в разных дозах вносили в культуральную среду в начальный момент культивирования в объеме 10 мкл. В качестве растворителя препарата использовали среду. Эффект препарата выражали в процентах: (пролиферация в присутствии препарата — пролиферация без препарата)/(пролиферация без препарата)  $\times 100\%$ .

Полученные данные (частично) обрабатывались по непараметрическому критерию U Манна — Уитни.

### Результаты

Скрининг иммуностропной активности оригинальных соединений, как правило, начинается с оценки их свойств в тесте митоген-стимулированной пролиферации интактных клеток селезенки. Принято считать, что этот метод позволяет оценить потенциальную иммуностимуляторную или иммунодепрессивную активность веществ. В **таблице 1** представлены данные о влиянии 17 соединений — комплексов триэтанолamina с солями различных металлов (Co, Zn, B, Mn, Mo, V, Cu, Fe, Cd, Ni, Mg, Rh) — на спонтанную и митоген-стимулированную пролиферацию клеток селезенки интактных мышей гибридов СВF1. Как видно из таблицы, комплексные соединения биомикроэлементов кобальта, ванадия, меди обладают отчетливыми антипролиферативными свойствами: в использованных дозах (1–10 мкг/мл)

Таблица 1

Иммуноактивные свойства комплексов триэтанолamina с солями различных металлов в культуре *in vitro* (данные представлены в процентах относительно соответствующего контроля)

Группы	Доза, мкг/мл	Спонтанная пролиферация	Con A	PWM
Комплекс хлорида кобальта	1	-5	-13	-40
	5	-25	-53	-81
	10	-68	-85	-91
Комплекс ацетата кобальта	1	-11	-14	-22
	5	-32	-61	-67
	10	-35	-72	-77
Комплекс ацетата цинка	1	+61	+30	-12
	5	+57	+10	+7
	10	+56	+2	+13
Комплекс хлорида цинка	1	-25	+19	-10
	5	-14	-22	-25
	10	-26	-20	0
Боратран	1	+16	+18	+32
	5	+8	+18	+24
	10	+31	+5	+1
Комплекс ацетата марганца	1	+11	+29	-2
	5	+3	+5	-13
	10	-35	-33	-23
1-оксо-1-гидрокси-молибдатран	1	-1	-3	+37
	5	+7	+28	+21
	10	+1	+17	+12
1-оксо-ванадатран	0,01	+16	+13	
	0,1	+19	+17	
	1	-34	-54	-50
	5	-77	-69	-71
	10	-87	-85	-90

Группы	Доза, мкг/мл	Спонтанная пролиферация	Con A	PWM
Комплекс хлорида меди	1	-13	-1	+1
	5	-34	+68	-5
	10	-65	+49	-32
Комплекс ацетата меди	1	-66	-28	-32
	5	-76	-77	-27
	10	-74	-56	-24
Комплекс ацетата кадмия	1	+1	+26	+9
	5	+8	+6	-20
	10	-12	+3	-7
Комплекс ацетата никеля	1	-6	+23	+4
	5	+12	+10	-23
	10	+44	+3	-6
Комплекс хлорида магния	1	+20	+28	+35
	5	+15	+33	+52
	10	+21	+37	+38
Комплекс хлорида железа (Fe <sup>3+</sup> )	1	+11	+29	+13
	5	+2	+37	+43
	10	-1	+29	+18
Комплекс йодида натрия	1	+5	+11	-5
	5	+5	+12	0
	10	-2	+3	-9
Комплекс хлорида родия (1:2)	1	+49	-51	-21
	5	+23	-40	-20
	10	-9	-35	-7
Комплекс хлорида родия (1:3)	1	+2	-54	-34
	5	-24	-72	+2
	10	0	-55	-11

они ингибируют спонтанную, Con A- и PWM-стимулированную пролиферацию T- и B-клеток селезенки *in vitro*. Из ингибиторов пролиферации максимальными подавляющими свойствами обладают 1-оксованадатран, комплекс хлорида кобальта, комплекс ацетата кобальта. Видно, что комплексы хлорида и ацетата кобальта проявляют дозовую зависимость (для ацетата кобальта LD<sub>50</sub> 675, LD<sub>100</sub> 2000 мг/кг), а 1-оксованадатран в зависимости от дозы как стимулирует, так и подавляет спонтанную и митоген-индуцированную пролиферацию спленоцитов. Иммуностимулирующие свойства в культуре *in vitro* проявили комплекс ацетата цинка, боратран, комплекс хлорида магния и комплекс хлорида железа (Fe<sup>3+</sup>) в отношении Con A- и PWM-стимулированной пролиферации клеток селезенки. Комплекс ацетата цинка, в отличие от боратрана и комплекса хлорида магния и железа, в большей степени стимулирует спонтанную, чем стимулированную пролиферацию. Иммуноактивные свойства других соединений оценить достаточно сложно: например, комплексы хлоридов родия

проявляют в большей степени ингибирующее действие на Con A-стимулированную пролиферацию клеток селезенки, чем на спонтанную и PWM-стимулированную. Остальные соединения обладают маловыраженным влиянием на спонтанную и стимулированную митогенами пролиферацию клеток селезенки *in vitro*.

Соединение 1-оксованадатран, проявляющее выраженную антипролиферативную, иммунодепрессивную активность в отношении лимфоидных клеток иммунной системы от интактных мышей (табл. 1), было исследовано на противоопухолевую активность в культуре клеток опухолей меланомы B16, лимфолейкоза L1210, мастоцитомы P815, аденокарциномы Льюиса LLC *in vitro*.

Как видно из данных таблицы 2, 1-оксованадатран проявляет избирательный противоопухолевый эффект в отношении клеток опухоли меланомы B16 и не оказывает влияния на пролиферацию клеток опухолей лимфолейкоза L1210, мастоцитомы P815 и аденокарциномы Льюиса LLC. Исследованный в качестве препарата сравнения цитостатик цисплатин, широко исполь-

Таблица 2

Проллиферативная активность клеток разных опухолевых линий при совместном культивировании с 1-оксованадатраном (данные представлены в абсолютных значениях и в процентах относительно соответствующего контроля)

Доза, мкг/мл	L1210		B16		LLC		P815	
	Среднее значение (имп./мин)	%						
0	33651		1574		86859		74325	
1	22073	-35	1011	-36	86587	+1	88471	+19
5	23948	-29	406*	-75	92799	+6	85221	+14
10	20856	-39	312*	-80	77089	-12	55850	-25

Примечание: \* — достоверно относительно соответствующего контроля,  $P < 0,05$ .

Таблица 3

Влияние комплексных соединений биоэлементов на гуморальный иммунный ответ *in vivo*

Соединения	Число АОК на селезенку			
	BDF1		CBF1	
	Среднее значение двух опытов	Процент от контроля	Среднее значение двух опытов	Процент от контроля
Контроль	7710		26416	
Ацетат Со	1895	-76	23199	-12
Ацетат Мп	2451	-69	16586	-37
Ацетат Zn	2948	-62	23578	-11
Хлорид Со	4311	-44	19878	-25
Боратран	4954	-36	11533	-56
Молибдатран	5017	-35	30211	+14

Таблица 4

Влияние комплексных соединений биоэлементов на гиперчувствительность замедленного типа *in vivo*

Соединения	ГЗТ			
	BDF1		CBF1	
	Среднее значение двух опытов	Процент от контроля	Среднее значение двух опытов	Процент от контроля
Контроль	55,7		35,6	
Ацетат Со	75,3	+35	31,6	-11
Ацетат Мп	81,7	+46	49,4	+39
Ацетат Zn	66,1	+19	30,8	-14
Хлорид Со	56,4	+1	29,6	-17
Боратран	53,6	-4	41,6	+17
Молибдатран	56,5	+1	44,0	+23

зубый в клинике, в дозе 0,5, 2,5 и 5 мкг/мл подавлял пролиферацию клеток опухоли меланомы В16 на 60, 93 и 94% соответственно.

Соединения, проявившие *in vitro* иммуноактивные свойства, были изучены в тестах IgM-антителообразования и ГЗТ *in vivo*. В таблице 3 представлены данные по влиянию соединений на первичный гуморальный иммунный ответ, из которых видно, что у мышей BDF1, низкоотвечающих числом IgM-АОК на тимус-зависимый антиген (ЭБ), все соединения в дозе 10 мг/кг вызвали подавление первичного гуморального иммунного ответа (на 35–76%, в среднем — на 54%). У мышей CBF1, высоко-

отвечающих числом клеток, синтезирующих IgM-антитела, аналогичная доза соединений вызывает меньшее угнетение ответа (на 11–56%, в среднем — на 28%). Комплекс ацетата кобальта, вызывающий наибольшую иммунодепрессию у мышей BDF1, в такой же дозе практически не влияет на антителообразование у мышей CBF1. Наиболее выраженным иммуносупрессивным эффектом обладает боратран, вызывающий ингибирование на 36% у мышей BDF1 и более чем на 50% — у мышей CBF1.

В таблице 4 приведены данные о влиянии соединений на клеточный иммунный ответ *in vivo*. Как видно из данных таблицы 4,

комплексные соединения биоэлементов оказывают различные эффекты на выраженность ГЗТ у мышей BDF1 и CBF1, например, ацетат кобальта стимулирует ГЗТ на 35% у мышей BDF1 и незначительно подавляет реакцию у мышей CBF1. Наиболее интересными представляются данные о способности комплекса ацетата марганца эффективно подавлять гуморальный и стимулировать клеточный иммунный ответ. Таким же оппозитным влияем на первичный гуморальный и клеточный иммунный ответ обладает комплекс хлорида родия (1:3), подавляющий IgM-ответ на 23% и стимулирующий ГЗТ на 52%.

### Заключение

Актуальной проблемой является создание новых лекарственных средств для лечения расстройств иммунитета. Вместе с этим крайне актуальна проблема разработки методологии скрининга иммуноактивных средств, поскольку прежняя методология, базирующаяся на поиске иммуностимуляторов/иммунодепрессантов, на сегодняшнем этапе развития иммунологии себя не оправдывает. Отсутствие препаратов, способных изменять баланс Th1/Th2 в нужном направлении, выдвигает требование к поиску среди новых химических групп иммуотропных веществ и разработки экспериментальных подходов, обеспечивающих на этапе скрининга выявление эффективных соединений. В ряду комплексных соединений триэтанолamina с солями биомикроэлементов при скрининге в тестах *in vitro* и *in vivo* выявлены малотоксичные высокоэффективные биологически активные вещества, обладающие иммуотропными свойствами. В культуре *in vitro* и в тестах *in vivo* выявляются комплексные соединения как с иммуностимулирующими, так и с иммунодепрессивными свойствами. Соединение 1-оксованадатран, возможно, обладает лимфотропными свойствами — проявляет максимально выраженные иммунодепрессивные (антипролиферативные) свойства в культуре лимфоидных клеток и совершенно не влияет на пролиферацию опухолевых клеток разных видов. Оценивая в целом данные по скринингу иммуноактивных и противоопухолевых свойств комплексных соединений триэтанолamina с солями биомикроэлементов, можно отметить среди них вещества, обладающие разнонаправленным действием на клеточный и гуморальный иммунный ответ, что делает их потенциально перспективными для создания новых лекарственных средств.

### Литература

1. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Иммуномодуляторы: механизм действия и клиническое применение // Иммунология. 2003. (4). 196–203.
2. Воронков М.Г., Барышок В.П. Силатраны в медицине и сельском хозяйстве. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2005. 258 с.
3. Voronkov M.G., Baryshok V.P. Use of silatranes in medicine and agriculture. Novosibirsk: Izd-vo SB RAS, 2005. 258 p.
4. Voronkov M.G., Baryshok V.P. Metallatranes // J. Organomet. Chem. 1982. 239. 199–249.
5. Lukevics E., Ignatovich L. The chemistry of organogermanium, tin and lead compounds. Vol. 2. N.Y., 2002. 1653.
6. Школьник М.Я. Микроэлементы в жизни растений. Л.: Наука, 1974. 324 с.
7. Shkolnik M.Ya. Microelements in life of the plants. L.: Nauka, 1974. 324 p.
8. Воронков М.Г. Металлоатраны — новый класс физиологически активных веществ. // Вестник АН СССР. 1968. (10). 45–53.
9. Voronkov M.G. Metalloatranes — new class of physiologically active compounds // Vestnik AN SSSR. 1968. (10). 45–53.
10. Verkade J.G. Main group atranes: chemical and structural features // Coordination Chem. Rev. 1994. 137. 233–295.
11. Nairni A. A., Young V., Verkade J.G. New complexes of triethanolamine (TEA): novel structural features of [Y(TEA)<sub>2</sub>](ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> • 3C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N and [Cd(TEA)<sub>2</sub>](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> // Polyhedron. 1995. 14. (3). 393.
12. Шмаков В.Н., Константинов Ю.М., Кузнецова Г.А., Воронков М.Г. Влияние О-гидрометаллоатранов на рост растительных клеток в культуре. // Докл. АН. 2006. 410. (5). 716–717.
13. Shmakov V.N., Konstantinov Yu. M., Kuznetsova G.A., Voronkov M.G. Influence of O-hydrometalloatranes on growing vegetable hatches // Dokl. AN. 2006. 410. (5). 716–717.
14. Адамович С.Н., Кузнецова Г.А., Кашик Т.В. и др. Комплексы триэтанолamina с ароксисукусными кислотами и их металлческими солями — новый класс биологически активных соединений // Журн. общей химии. 2008. 78. (9). 1523–1528.
15. Adamovich S.N., Kuznetsova G.A., Kashik T.V. Complexes of triethanolamine with aroxyacetic acids and their metal salts as a new class of biologically active compounds // Zhurn. obzchey Khimii. 2008. 78. (9). 1523–1528.
16. Воронков М.Г., Лапсина А.Ф. 1-Оксованадатраны // Химия гетероциклических соединений. 1966. (3). 357–360.
17. Voronkov M.G. 1-Oxovanadatranes // Chem. Heterocycl. Comp. 1966. (3). 357–360.
18. Воронков М.Г., Зелчан Г.И. Атраны. 11. Гидросилатраны // Химия гетероциклических соединений. 1967. (2). 371–373.
19. Voronkov M.G., Zelchan G.I. Atran. 11. Hydro-silatranes // Chem. Heterocycl. Comp. 1967. (2). 371–373.

13. Воронков М.Г., Лапсинь А.Ф. Атраны. 12. 1-Окси-1-оксомolibдатраны //Химия гетероциклических соединений. 1967. (3). 561–563.  
Voronkov M.G., Lapsin A. Ph. Atranans. 12. 1-Oxy-1-oxomolibdatranes // Khimiya geterotsiklicheskih soedinenii. 1967. (3). 561–563.

14. Cunningham A.J., Szenberg A. Further improvements in the plague technique for detecting single antibody-forming cells // Immunology. 1968. 14. (4). 599–600.

15. Crowle A.J. Delayed hypersensitivity in the mouse // Adv. Immunol. 1975. (20). 197–264.

## SCREENING OF IMMUNOACTIVE AND ANTITUMOR PROPERTIES OF TRIETHANOLAMINE COMPLEX WITH SALTS OF BIOTRACE ELEMENTS

Olga Petrovna KOLESNIKOVA<sup>1</sup>, Anna Nikolaevna MIRSKOVA<sup>2</sup>, Sergey Nikolaevich ADAMOVICH<sup>2</sup>, Galina Alekseevna KUZNETSOVA<sup>2</sup>, Olga Timopheevna KUDAEVA<sup>1</sup>, Irina Aleksandrovna GOLDINA<sup>1</sup>, Irina Vasilyevna SAFRONOVA<sup>1</sup>, Rudolf Grigorevich MIRSKOV<sup>2</sup>, Konstantin Valentinovich GAIDUL<sup>1</sup>, Mikhail Grigorevich VORONKOV<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Research Institute of Clinical Immunology Russian Academy of Medical Sciences Siberian Branch  
14, Yadrintsevskaya str., Novosibirsk, 630099

<sup>2</sup>A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences  
1, Favorsky str., Irkutsk, 664033

The immunotropic and antitumor activity of biocomponent complexes  $MX_m \cdot [(HOCH_2CH_2)_3N]_n$ ,  $n=1,2$ ;  $m=1-3$  (A) has been investigated for the first time. The complexes were synthesized from the salts of biotrace elements  $M=Mg, Ca, Zn, Mn, Cu, Fe, Co, Ni, Cd, Rh$  with hydrochloric or acetic acid ( $X = Cl, CH_3COO$ ) and triethanolamine  $N(CH_2CH_2OH)_3$ , as well as with intracomplex derivatives of triethanolamine—1-oxovanadatran, boratran, 1-oxo-1-hydroxymolibdatran. Low-toxic and highly effective compounds affecting the integral indices of immune response—antibody-formation, cell immunity (reaction of inhibited hypersensitivity) and anti-proliferating properties were found among complexes of triethanolamine with salts of biotrace elements *in vitro* and *in vivo*. Complex compounds of manganese, rhodium and cobalt showed the most pronounced selective immuno-active properties—an ability to stimulate either humoral or cell immune response in tests on IgM- antibody-formation, reaction of inhibited hypersensitivity on thymus-dependent antigen in intact mice. These compounds *in vitro* inhibited or stimulated also spontaneous, ConA-, PWM-induced proliferation of spleen cells in intact mice. 1-Oxovanadatran exerted strong anti-proliferative activity with respect to lymphoid cells of intact mice, and did not influence on proliferation of tumor cells of mastocytoma P815, Lewis adenocarcinoma LLC, of melanoma B16 and lymphatic leukemia L1210.

**Keywords:** triethanolamine complex with salts of biotrace elements; immunoactive and antitumor properties.

**Kolesnikova O.P.** — DSc., head of the laboratory of experimental immunotherapy

**Mirskova A.N.** — Dr. Sc., professor, head research worker e-mail: mirskova@irioc.irk.ru

**Adamovich S.N.** — PhD, senior research worker

**Kuznetsova G.A.** — research worker

**Kudaeva O.T.** — DSc., senior research worker

**Goldina I.A.** — research worker

**Safronova I.V.** — PhD research worker

**Mirskov R.G.** — Dr. Sc., professor, lead research worker

**Gaidul K.V.** — DSc., professor

**Voronkov M.G.** — Academician RAS