

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.

# ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНЫХ ТЕРПЕНОИДОВ И СИНТЕТИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДНОГО РЕЗОРЦИНА КАРИОФИЛЛЕНА НА БИОСИНТЕЗ ХОЛЕСТЕРИНА И НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

*Перминова О.М., Кудинова Е.Н., Вольский Н.Н., Душкин М.И.*

**ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН, Новосибирск**

Синтетические конкурентные ингибиторы оксиметилглутарил-КоА-редуктазы (ОМГ-КоА-редуктаза), известные под названием статинов, способны подавлять эндогенный синтез холестерина (ХС) и в последние годы широко применяются как антиатерогенные средства. В то же время накапливаются клинические данные о различных побочных эффектах этих соединений, что побуждает к поиску новых фармакологических препаратов, обладающих полезными свойствами статинов, но не имеющих их недостатков. Широко представленные в растениях терпеноиды (терпены и их производные), хотя и оказывают более мягкое воздействие на синтез ХС, но значительно менее токсичны. Экспериментальные работы свидетельствуют, что данные соединения обнаруживают противовоспалительные, бактерицидные и противоопухолевые свойства. Можно предполагать, что синтетические аналоги природных терпеноидов будут обладать фармакологическими свойствами, позволяющими применять препараты этой группы для лечения заболеваний со сложным патогенезом. Синтез одного из таких соединений – динатриевой соли резорцинового производного кариофиллена (РПК) – был осуществлен Н.Ф.Салахутдиновым и В.В.Фоменко (НИИ органической химии СО РАН, Новосибирск).

**Целью** настоящей работы было изучение некоторых проявлений биологической активности РПК в сравнении со свойствами природных терпеноидов – периллового спирта, дипентена (лимонена),  $\alpha$ -терпиненола, 1,8-цинеола – и аторвастатина (препарата из группы статинов), используемого в качестве препарата сравнения и положительного контроля. Исследования проводились на мышцах-самцах линии С57В1 и гибридных самцах (СВА $\times$ С57В1) $F_1$ .

Нами изучено влияние этих соединений на:

- биосинтез ХС, оцениваемый по скорости включения  $[1,2-^{14}\text{C}]$ -ацетата натрия в ХС печени мыши;

- интенсивность пролиферативного ответа спленоцитов мыши при их стимуляции митогеном (конканавалином А), оцениваемую по включению [<sup>3</sup>H]-тимидина в делящиеся клетки.

Индуцированное зимозаном (0,75 мг/мышь) асептическое воспаление приводило к двукратному увеличению скорости включения меченого ацетата (60 мкКи/100 мг массы тела) в ХС печени мышей. На этом фоне введение мышам соли РПК (5 мг/мышь) сопровождалось снижением скорости биосинтеза ХС до уровня, наблюдаемого у интактных животных. Аналогичные эффекты обнаружены также у аторвастатина (0,2 мг/мышь) и природных терпеноидов (8,5 мг/мышь), за исключением периллового спирта. Последний обладал стимулирующим эффектом, что не противоречит данным литературы, согласно которым перилловый спирт способен значительно повышать включение <sup>14</sup>С-ацетата в ХС, не влияя при этом на активность ОМГ-КоА-редуктазы.

Показано также, что исследуемый синтетический терпеноид дозозависимо ингибирует пролиферативный ответ спленоцитов мыши на митогенную стимуляцию *in vitro*. При этом снижение пролиферативной активности в 2 раза наблюдалось при концентрации РПК в культуре, равной 500–600 мкМ. Наиболее эффективным среди природных терпеноидов оказался дипентен, достоверно подавляющий пролиферативный ответ спленоцитов на митоген в концентрации 12,5 мкМ и выше, хотя и его минимальная действующая концентрация существенно превышала таковую аторвастатина (0,32 мкМ). Перилловый спирт и α-терпинеол достоверно подавляли клеточную пролиферацию в концентрациях, превышающих 100–200 мкМ. В то же время 1,8-цинеол в тех же концентрациях не оказывал значимого влияния на пролиферацию лимфоцитов в культуре *in vitro*. Можно заключить, что эффективность РПК в данной реакции сравнима с эффективностью периллового спирта и α-терпинеола, но уступает эффективности дипентена.

Таким образом, синтезированное водорастворимое соединение из группы терпеноидов резорциновое производное кариофиллена обладает существенным влиянием на изученные параметры, включающие биосинтез холестерина в гепатоцитах и функциональную активность иммунокомпетентных клеток. По предварительным данным, препарат является малотоксичным, и после дальнейшего доклинического исследования он может рассматриваться как перспективное фармакологическое средство, обладающее гипохолестеринемическим и противовос-

палительным действием. Большие значения действующих концентраций препарата компенсируются его малой токсичностью и легкостью синтетического получения по сравнению со статинами.

## **EFFECT OF THE NATIVE TERPENOIDS AND SYNTHETIC RESORCINIC DERIVATIVE OF THE CARYOPHYLLENE ON THE CHOLESTEROL BIOSYNTHESIS AND FUNCTIONAL ACTIVITY OF IMMUNE SYSTEM CELLS**

*Perminova O.M., Kudinova E.N., Volsky N.N., Dushkin M.I.*

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

The synthetic competitive inhibitors of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase (HMG-CoA reductase) known as statins can inhibit endogenous cholesterol synthesis and are widely used as anti-atherogenic drugs. At the same time, the clinical data suggesting the different side effects of statins are being accumulated that induces to search for new drugs possessing the statin useful properties but not having their side effects. Terpenoids presented widely in plants are significantly less toxic although their effect on the cholesterol synthesis is softer than the one of statins. The experimental works suggest that these compounds reveal anti-inflammatory, anti-bacterial and anti-tumor properties. It is possible to propose that the synthetic analogs of native terpenoids will have the pharmacological properties allowing to use preparations of this group for treatment of diseases with a complicated pathogenesis. The synthesis of one from such compounds – a disodium salt of resorcinic derivative of the caryophyllene (RDC) has been realized by N.F.Salahutdinov and V.V.Fomenko (Institute of organic chemistry of Russian Academy of Sciences, Siberian Branch, Novosibirsk).

The aim of this work was to study some manifestations of RDC biological activity in comparison with the properties of both the native terpenoids – perillyl alcohol, dipentene (limonene),  $\alpha$ -terpineol, 1,8-cineole – and the drug preparation of the statin group – atorvastatin used as the comparison preparation and the positive control. Male C57Bl mice and hybrid (CBA $\times$ C57Bl) $F_1$  mice were used in experiments. We have investigated the effect of these compounds on:

- the cholesterol biosynthesis estimated by a rate of a [1,2- $^{14}$ C]sodium acetate incorporation into the cholesterol of a mouse liver;

- the intensity of a murine spleen cell proliferative response upon a mitogenic stimulation (Con A) evaluated by a [<sup>3</sup>H]thymidine incorporation into dividing cells.

The aseptic inflammation induced by zymosan (0,75 mg/mouse) led to a 2-fold enhancement of the labeled acetate incorporation into cholesterol of the mouse liver. RDC injection (5 mg/mouse) resulted in a decrease of the cholesterol biosynthesis rate to control level. The similar effects were also detected for atorvastatin (0,2 mg/mouse) and native terpenoids (8,5 mg/mouse) except for perillyl alcohol. The latter compound has revealed the stimulating effect that did not contradict the literary data. It is known that perillyl alcohol can essentially increase the [<sup>14</sup>C]acetate incorporation into cholesterol not affecting the HMG-Co A reductase activity.

It was also shown that the investigated synthetic terpenoid down-regulated the mitogen-stimulated spleen cell proliferation in vitro in a dose dependent manner. A 2-fold reduction of proliferative activity was observed at concentrations of RDC ranging from 500 to 600 μM. Dipentene was the most effective native terpenoid significantly inhibiting the proliferative response at concentrations of one ranging from 12,5 μM and more, although its minimal acting concentration significantly exceeded that of atorvastatin (0,32 μM). Both perillyl alcohol and α-terpineol significantly suppressed cell proliferation at concentrations exceeding 100–200 μM. At the same time, 1,8-cineole had no significant effect on the lymphocyte proliferation in vitro at the same concentrations. It is concluded that RDC efficacy is compared with that of both perillyl alcohol and α-terpineol but less than that of dipentene in this reaction.

Thus, the synthesized water-soluble compound from the terpenoid group – RDC – possesses the vigorous effect on the examined parameters including the cholesterol biosynthesis in hepatocytes and the immunocompetent cell functional activity. Preliminary data show that the preparation is minimally toxic and may be considered as the perspective pharmacological compound having hypocholesterolemic and anti-microbial properties after the further clinical investigation. The higher values of the acting concentrations of RDC are compensated by both its low toxicity and a simple synthesis in comparison with statins.