

*Колесникова О.П., Кудаева О.Т., Гойман Е.В., Гаврилова Е.Д., Гайдуль К.В., Козлов В.А.*  
**ИММУНОДЕПРЕССИВНЫЕ, АНТИМЕТАСТАТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГОТОВОЙ  
ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ СОЕДИНЕНИЯ ВМ-7-02**

НИИ клинической иммунологии СО РАМН, Новосибирск

**Резюме**

Готовая лекарственная форма соединения ВМ-7-02 (ГЛФ) проявляет иммунодепрессивные свойства *in vivo* у мышей гибридов в модели IgM иммунного ответа, а также оказывает выраженный антиметастатический эффект в отношении клеток гепатомы Г27. В модели аутоиммунного заболевания (иммунокомплексный гломерулонефрит) иммунодепрессивный эффект ГЛФ сравним с азатиоприном. ГЛФ существенно подавляет выработку IgE у мышей с гломерулонефритом.

При скрининге иммуноактивных свойств ряда новых соединений, синтезированных в ИРИХ СО РАН (проф. Мирскова А.Н.), выделено соединение ВМ-7-02 [трис-(2-гидроксиэтил) аммониевая соль (1-бензилиндолил-3-тио) уксусной кислоты], способное селективно ингибировать активность Th2 клеток, подавлять рост злокачественных новообразований [1]. Целью настоящего исследования является изучение иммунодепрессивных, антиметастатических свойств готовой лекарствен-

ной формы соединения ВМ-7-02. В Новокузнецком научно-исследовательском химико-фармацевтическом институте разработана готовая лекарственная форма соединения ВМ-7-02 в виде капсул (по 0,1 г действующего вещества).

**Материалы и методы**

**Животные.** В работе использовали здоровых половозрелых животных — мышей линии СВА, DBA/2, С57В1/6, мышей гибридов (СВАхС57В1/6)F1 (СВF1), мышей гибридов (С57В1/6хDBA/2)F1 (ВDF1) обоего пола, 8 — 10-недельного возраста, массой тела 18 — 20 г. Опыты проводили в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите животных (Страсбург, 1986), и одобренных комитетом по биомедицинской этике НИИ клинической иммунологии СО РАМН. Исследование готовой лекарственной формы ВМ-7-02 (ГЛФ) проводили в несколько серий опытов, соответственно каждая серия опытов имела свой контроль. В каждой группе было не менее 10 мышей. Содержимое капсулы растворяли в

среде RPMI 1640 и вводили мышам внутривенно в дозе 25 мг/кг (10 мг/кг действующего вещества) в объеме 0,5 мл ежедневно один раз в сутки, число введений составляло разное количество, что зависело от условий опыта, но не менее 3-х. Методы. Количество IgM АОК в селезенке мышей оценивали на пике иммунного ответа (4-е или 5-е сутки после иммунизации в зависимости от вида мышей-гибридов) по количеству зон локального гемолиза в полужидкой среде методом Cunningham (1968). Результаты выражали в абсолютном количестве IgM АОК в селезенке. Антиметастатические свойства ГЛФ изучали у мышей линии СВА. Клетки гепатомы Г27 вводили внутривенно в дозе  $100 \times 10^3$ /мл в объеме 0,5 мл. Учет метастазов в легких проводили на 15 день после перевивки опухоли. Готовую лекарственную форму ВМ-7-02 в различных дозах вводили внутривенно (14 введений по одному разу в день). Модель иммунокомплексного гломерулонефрита — люпус-подобного нефрита у мышей осуществляли путем индукции хронической РТПХ — переноса самкам В6D2F1 лимфоидных клеток родительской линии DBA/2 [3]. Поражение почек тестировали по уровню белка в моче. Содержание белка в моче определяли калориметрически с красителем Kumsai brilliant blue (Loba Feinchemie) с помощью Titertec Multiskan, длина волны  $\lambda$  570 нм. ГЛФ ВМ-7-02 в дозе 25 мг/кг (10 мг/кг действующего вещества) вводили мышам с иммунокомплексным гломерулонефритом внутривенно, курс составил 13 введений. Контрольным мышам в таком же режиме вводили азатиоприн (в дозе 10 мг/кг действующего вещества). Определяли уровень белка в моче до введения препаратов, через 7 дней от начала введения и по окончании курса. Определение уровня IgE в сыворотке животных проводили согласно рекомендациям производителя (Mouse IgE ELISA Set BD Biosciences).

#### Результаты исследования

Установлено, что введение ГЛФ ВМ-7-02 в индуктивную/продуктивную фазы первичного гуморального иммунного ответа (одновременно с антигеном и далее в течение 3-х суток ежедневно) приводит к достоверному подавлению IgM ответа: у ♂ гибридов СBF1 на 27%, у ♀ гибридов ВDF1 в трех сериях опытов на 33% — 37%. Иммунодепрессивный эффект ГЛФ сравним с эффектом субстанции соединения ВМ-7-02 (при одинаковой дозе содержания действующего вещества).

Изучение антиметастатических свойств готовой лекарственной формы препарата ВМ-7-02 в модели метастазирования клеток гепатомы Г27 выявило эффективное ингибирование процесса метастазирования клеток опухоли в легкие: при дозе 25 мг/кг число метастазов снижается в 3,4 раза, при дозе 50 мг/кг — в 2 раза.

Изучение иммунодепрессивных свойств ГЛФ ВМ-7-02 в модели аутоиммунного заболевания — иммунокомплексного гломерулонефрита оценивали по его влиянию на уровень белка в моче. Установлено, что курсовое введение ГЛФ ВМ-7-02 приводит к достоверному снижению количества белка в моче: исходно протеинурия составляла 5,3 мг/мл, через неделю от начала лечения — 4,4 мг/мл, по окончании курса — 3,7 мг/мл. При введении азатиоприна наблюдается аналогичная картина: исходно протеинурия была 5,2 мг/мл, через неделю от начала лечения — 4,4 мг/мл, по окончании курса — 4,0 мг/мл. Таким образом, ГЛФ ВМ-7-02 оказывает иммунодепрессивный эффект у мышей с иммунокомплексным гломерулонефритом, сравнимый с лекарственным препаратом азатиоприном, но азатиоприн является значительно более токсичным препаратом.

Известно, что хроническая РТПХ развивается при доминирующей активации Th2-клеток, что сопровождается повышенной продукцией IL-4 и, как следствие, возрастанием уровня IgE. При хронической РТПХ (DBA→В6D2F1) наблюдается повышение уровня IgE уже через неделю, через 6 недель уровень повышается в 200 раз [2]. Показано, что введение антагани-

стов IL-4, иммуносупрессивных препаратов (рапамицина, FK 506, циклоспорина А) снижает выраженность проявлений хронической РТПХ и приводит к снижению уровня IgE [4]. Установлено, что у интактных мышей самок В6D2F1 в сыворотке уровень IgE составляет 26,5 мкг/мл, у мышей с иммунокомплексным гломерулонефритом 156,8 мкг/мл, у мышей с гломерулонефритом после курсового введения ГЛФ ВМ-7-02 — 56,0 мкг/мл.

Таким образом, готовая лекарственная форма соединения ВМ-7-02 проявляет иммунодепрессивные свойства у мышей-гибридов разных видов в модели гуморального иммунного ответа, оказывает выраженный антиметастатический эффект в отношении клеток гепатомы Г27. В модели аутоиммунного заболевания (иммунокомплексный гломерулонефрит) иммунодепрессивный эффект готовой лекарственной формы сравним с азатиоприном, который нередко вызывает серьезные побочные реакции и имеет ряд противопоказаний к применению. ГЛФ ВМ-7-02 существенно подавляет выработку IgE у мышей с гломерулонефритом в модели хронической РТПХ (DBA→В6D2F1).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Колесникова О.П. Селективные иммунодепрессивные свойства нового производного индолил-тиоалканкарбоновой кислоты / О.П. Колесникова, О.Т. Кудаева, Е.В. Ненашева, И.А. Гольдина, Е.В. Гойман, А.П. Лыков, И.В. Сафронова, В.Л. Лимонов, А.Н. Мирскова, Е.В. Рудякова, К.В. Гайдуль // Бюлл. СО РАМН. — 2007. — № 2. — С. 14 — 18.

2. Doutrlepoint J.M. Hyper IgE in stimulatory graft-versus-host disease: role of interleukin-4 / J.M. Doutrlepoint, M. Moser, O. Leo, D. Abramowicz, M.L. Vanderhaegen, J. Urbain, M. Goldman // Clin Exp Immunol. — 1991. — V. 83. — P. 133 — 136.

3. Kimura M. Depressed antibody responses to exogenous antigens in mice with lupus-like graft-versus-host diseases / M. Kimura, E. Gleichmann // Clin. Immunol. and Immunopathol. — 1987. — V. 43, № 1. — P. 97 — 109.

4. Umland S.P. Effects of in vivo administration of interferon (IFN)-gamma, anti-IFN-gamma, or anti-interleukin-4 monoclonal antibodies in chronic autoimmune graft-versus-host disease / S.P. Umland, S. Razac, D.K. Nahrebne, B.W. Seymour // Immunol Immunopathol. — 1992. — V. 63. — P. 66 — 73.

### *Kolesnikova O.P., Kudaeva O.T., Goiman E.V., Gavrilova E.D., Gaidul K.V., Kozlov V.A.* **IMMUNOSUPPRESSIVE, ANTIMETASTASIS PROPERTIES OF THE FINISHED PHARMACEUTICAL PRODUCT OF THE COMPOUND ВМ-7-02**

The finished pharmaceutical product of the compound ВМ-7-02 (FPP) reduces IgM response to T-dependent antigen of control mice in vivo and number of metastasis of the tumor (hepatoma Г27). Immunosuppressive effect of the FPP compare with azatioprin in the model of the autoimmune disease (immunocomplex glomerulonephritis). FPP considerably reduces production of the IgE mice with glomerulonephritis.